ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE TOULOUSE

ANNEE 1981 N° 75

ETUDE DE LA CONTAMINATION EXPERIMENTALE DU GIBIER A PLUMES

Phasianus colchicus (faisan)

Perdrix perdrix (perdrix grise)

Alectoris rufa (perdrix rouge)

PAR LE VIRUS DE L'ENCEPHALOMYELITE INFECTIEUSE AVIAIRE

THESE

POUR LE DOCTORAT VETERINAIRE
(Diplôme d'Etat)

Présentée et soutenue publiquement en 1981
devant l'Université Paul Sabatier de Toulouse

par

Xavier, Gérard, Michel BERTHELOT
Né, le 20 Juin 1954 à MONTMORENCY (Val d'Oise)

MEMBRES DU JURY

Président	Monsieur ARMENGAUD Professeur à l'Université Paul Sabatier de Toulouse
Assesseur	Monsieur LAUTIE Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse
Assesseur	Monsieur BODIN Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

COREP ASSISTANCE
21, rue Viguerie
31300 TOULOUSE
Tél. (61) 42.01.19

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41543924_0054

ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE TOULOUSE

ANNEE 1981 N° 75

ETUDE DE LA CONTAMINATION EXPERIMENTALE DU GIBIER A PLUMES

Phasianus colchicus (faisan)

Perdrix perdrix (perdrix grise)

Alectoris rufa (perdrix rouge)

PAR LE VIRUS DE L'ENCEPHALOMYELITE INFECTIEUSE AVIAIRE

THESE

POUR LE DOCTORAT VETERINAIRE
(Diplôme d'Etat)

Présentée et soutenue publiquement en 1981
devant l'Université Paul Sabatier de Toulouse

par

Xavier, Gérard, Michel BERTHELOT
Né, le 20 Juin 1954 à MONTMORENCY (Val d'Oise)

MEMBRES DU JURY

Président	Monsieur ARMENGAUD Professeur à l'Université Paul Sabatier de Toulouse
Assesseur	Monsieur LAUTIE Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse
Assesseur	Monsieur BODIN Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

COREP ASSISTANCE
21, rue Viguerie
31300 TOULOUSE
Tél. (61) 42.01.19

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

MINISTERE DE L'AGRICULTURE

ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE TOULOUSE

Directeur	M. LAUTIE
Directeurs honoraires	MM. PONS FLORIO
Professeurs honoraires	MM. BRIZARD BERTHELON SAURAT

PERSONNEL ENSEIGNANT

CHAIRE DE PHARMACIE ET TOXICOLOGIE

Professeur titulaire	M. GODFRAIN
Professeur sans chaire	Mme BURGAT-SACAZE

Pharmacie et Toxicologie

CHAIRE DE PHYSIQUE ET CHIMIE BIOLOGIQUES ET MEDICALES

Professeur titulaire	M. RICO
Professeur sans chaire	M. BRAUN
Maître Assistant	M. BENARD

Physique Biologique et Médicale
Chimie Biologique et Médicale

CHAIRE D'ANATOMIE DES ANIMAUX DOMESTIQUES

Professeur titulaire	M. PAVAUX
Maître Assistant	M. LIGNEREUX
Maître Assistant	M. SAUTET

Anatomie Descriptive - Extérieur - Anatomie Appliquée - Tératologie

CHAIRE DE PHYSIOLOGIE ET THERAPEUTIQUE

Professeur titulaire	M. RUCKEBUSCH
Professeur sans chaire	M. FARGEAS
Maître Assistant Agrégé	M. TOUTAIN

Physiologie - Pharmacodynamie et Thérapeutique

CHAIRE D'HISTOLOGIE - ANATOMIE PATHOLOGIQUE

Professeur titulaire	M. VAN HAVERBEKE
Professeur sans Chaire	M. CABANIE
Maître Assistant Agrégé	M. MAGNOL

Histologie - Embryologie - Anatomie Pathologique

CHAIRE D'HYGIENE ET INDUSTRIE DES ALIMENTS D'ORIGINE ANIMALE

Professeur titulaire	M. LABIE
Maître de Conférences	M. EECKHOUTTE
Maître Assistant Agrégé	Mme BENARD

Hygiène - Inspection - Contrôle et Technologie
des denrées alimentaires d'origine animale

CHAIRE DE PARASITOLOGIE ET MALADIES PARASITAIRES

Professeur titulaire	M. DORCHIES
Maître de Conférences	M. FRANC
Maître Assistant	M. DUCOS DE LAHITTE

Zoologie appliquée - Parasitologie externe - Parasitologie interne - Clinique

CHAIRE DE SEMIOLOGIE ET PATHOLOGIE MEDICALE DES EQUIDES ET CARNIVORES

Professeur titulaire	M. LESCURE
Maître de Conférences	M. GUELFI
Maître-Assistant	REGNIER

Sémiologie et pathologie médicale des équidés et carnivores
Législation vétérinaire et Déontologie clinique

CHAIRE DE PATHOLOGIE MEDICALE DU BETAIL ET DES ANIMAUX DE BASSE-COUR

Professeur titulaire	M. TOURNUT
Maître de Conférences	M. BEZILLE
Maître Assistant	M. JOUGLAR

Sémiologie et Pathologie médicale du bétail et des animaux de basse-cour
Clinique - Clinique ambulatoire

CHAIRE DE PATHOLOGIE CHIRURGICALE

Professeur titulaire	M. CAZIEUX
Maître Assistant Agrégé	M. GENEVOIS
Maître Assistant	M. AUTEFAGE

Propédeutique et Sémiologie Chirurgicale - Technique Chirurgicale
Pathologie Chirurgicale - Clinique

CHAIRE DE PATHOLOGIE DE LA REPRODUCTION

Professeur titulaire	M. FERNEY
Professeur sans chaire	M. ROYAL
Maître Assistant Agrégé	M. TAINTURIER

Sémiologie et Propédeutique - Pathologie de la Reproduction
Obstétrique - Clinique

CHAIRE DE MALADIES CONTAGIEUSES - ZOONOSES - LEGISLATION SANITAIRE

Professeur titulaire	M. CHANTAL
Maître de Conférences	M. GANIERE
Maître Assistant	PICAVET

Maladies contagieuses - Zoonoses - Législation Sanitaire

CHAIRE DE PATHOLOGIE GENERALE - MICROBIOLOGIE - IMMUNOLOGIE

Professeur titulaire	M. LAUTIE
Maître Assistant	M. PELLERIN

Microbiologie - Immunologie - Pathologie Générale

CHAIRE DE ZOOTECHNIE ET ECONOMIE RURALE

Professeur titulaire	M. QUEINNEC
Professeur sans chaire	DARRE
Maître Assistant	Mme QUEINNEC

Ethnologie - Génétique appliquée - Hygiène générale - Zootechnie - Elevage
Economie Générale et des productions animales

CHAIRE D'ALIMENTATION

Professeur titulaire	M. FALIU
Professeur sans chaire	M. GRIESS

Botanique appliquée et Bromatologie- Agronomie - Alimentation

CHARGES D'ENSEIGNEMENT

MM. les Professeurs : ANGELIER, ARMENGAUD, AUVERGNAT, BLANC, BOURBON, COMBES, COMBRET, CROS, FERNET, LE BIHAN, MAZENC, RIVES.

La Faculté et l'Ecole déclarent n'être pas responsable des opinions émises par les candidats (délibération de la Faculté en date du 10 mai 1391 et du Conseil de l'Ecole en date du 13 juin 1924).

ETUDE DE LA CONTAMINATION EXPERIMENTALE DU GIBIER A PLUMES

PHASIANUS COLCHICUS (FAISAN)
PERDRIX PERDRIX (PERDRIX GRISE)
ALECTORIS RUFA (PERDRIX ROUGE)

PAR LE VIRUS DE L'ENCEPHALOMYELITE INFECTIEUSE AVIAIRE

A MES PARENTS

qui sont aussi mes amis.

A MON FRERE ET A MA SOEUR

A ISABELLE

A MA FAMILLE

A TOUS MES AMIS.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR ARMENGAUD

Professeur à l'Université Paul Sabatier de TOULOUSE

Qui nous fait le très grand honneur de
présider notre jury de thèse.
Hommage respectueux.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR LAUTIE

Directeur de l'Ecole Nationale Vétérinaire

de Toulouse.

Qui nous a inspiré ce travail, nous a toujours accueilli dans son service avec bienveillance et nous a constamment honoré de sa confiance.

Qu'il accepte de trouver ici l'expression de notre profonde gratitude.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR BODIN

A qui nous devons quelques ùns des
mèilleurs moments de notre vie d'étudiant.
En gage d'amitié.

A MONSIEUR PELLERIN J.L.

Maître assistant.

Qui n'a ménagé ni son temps, ni ses conseils pour nous permettre de mener à bien notre travail.

Nos plus vifs remerciements.

A Melle le Docteur GERAL

Grâce à vos conseils, et à votre aide, nous avons pu participer modestement au travail entrepris et nous vous exprimons pour cela notre très vive reconnaissance.

A MADAME LACAZE,

A TOUT LE PERSONNEL DU LABORATOIRE DE
MICROBIOLOGIE IMMUNOLOGIE PATHOLOGIE GENERALE.

En remerciement pour leur aide bienveillante.

PREMIERE PARTIE

MISE AU POINT BIBLIOGRAPHIQUE SUR L'EMIA

I - DEFINITION, SYNONYMIE, HISTORIQUE

II - VIROLOGIE

2.1. LA PARTICULE VIRALE

2.1.1. Classification
2.1.2. Caractères morphologiques
2.1.3. Propriétés chimiques

2.1.3.1. Composition chimique
2.1.3.2. Résistance aux agents chimiques

2.2. CULTURE

2.2.1. Culture sur poussin
2.2.2. Culture sur oeuf embryonné
2.2.3. Culture sur cellules in vitro

2.3. POUVOIR PATHOGENE

2.3.1. Tropisme
2.3.2. Intensité du pouvoir pathogène

2.4. POUVOIR ANTIGENIQUE

III - EPIDEMIOLOGIE

3.1. EPIDEMIOLOGIE ANALYTIQUE

3.1.1. Sources de virus

3.1.2. Résistance
3.1.3. Transmission
3.1.3.1. Transmission directe
a/ Transmission horizontale
b/ Transmission verticale
3.1.3.2. Transmission indirecte
3.1.4. Réceptivité
3.1.4.1. Espèce
3.1.4.2. Race
3.1.4.3. Age
3.1.4.4. Individu
3.2. EPIDEMIOLOGIE SYNTHETIQUE
3.2.1. Dans un élevage sain
3.2.2. Dans un pays
3.2.3. Dans le temps
IV - ETUDE ANATOMO-CLINIQUE
4.1. INCUBATION
4.2. SYMPTOMES
4.2.1. Forme aiguë
4.2.2. Forme classique
4.2.2.1. Chez l'embryon
4.2.2.2. Chez le poussin
4.2.2.3. Chez l'adulte
4.2.3. Forme chronique
4.2.4. Cataracte enzootique

4.3. LESIONS

4.3.1. Lésions macroscopiques

4.3.1.1. Chez l'embryon
4.3.1.2. Chez le poussin
4.3.1.3. Chez les adultes et les poulets

4.3.2. Lésions microscopiques

4.3.2.1. Lésions nerveuses
4.3.2.2. Lésions viscérales

V - DIAGNOSTIC

5.1. DIAGNOSTIC CLINIQUE
5.2. DIAGNOSTIC EXPERIMENTAL

5.2.1. Diagnostic histologique
5.2.2. Diagnostic virologique
5.2.3. Diagnostic immunologique

5.2.3.1. Mise en évidence du virus par immuno-fluorescence directe
5.2.3.2. Mise en évidence des anticorps
a/ Epreuve de sensibilité de l'embryon
b/ Séroneutralisation

5.3. Diagnostic différentiel

VI - DIAGNOSTIC DIFFERENTIEL

VII - PROPHYLAXIE

7.1. PROPHYLAXIE SANITAIRE

7.1.1. Milieu infecté
7.1.2. Milieu indemne

7.2. PROPHYLAXIE MEDICALE

7.2.1. Intérêt

7.2.2. Vaccin à virus vivant

7.2.2.1. Principe

7.2.2.2. Réalisation

a/ Vaccin préparé sur poussin d'un jour

b/ Vaccin préparé sur embryon de poulet

7.2.2.3. Précautions

a/ Avant la vaccination

b/ Pendant la vaccination

c/ Après la vaccination

7.2.2.4. Résultats

7.2.2.5. Echecs

7.2.3. Vaccin à virus inactivé

7.2.3.1. Principe

7.2.3.2. Réalisation

7.2.3.3. Précautions

a/ Avant la vaccination

b/ Pendant la vaccination

c/ Après la vaccination

7.2.3.4. Résultats

7.2.3.5. Echecs

7.2.4. Comparaison vaccin vivant - vaccin inactivé

SECONDE PARTIE

A/ ETUDE DU POUVOIR PATHOGENE DU VIRUS DE L'EMIA SUR DES OISEAUX ADULTES : FAISAN, PERDRIX GRISE, PERDRIX ROUGE

I - MATERIEL ET METHODES

I.1. VIRUS UTILISE : PREPARATION ET TITRAGE DU STOCK DE VIRUS

1.1.1. Contrôle du pouvoir pathogène

1.1.2. Constitution du stock de virus

I.2. ANIMAUX UTILISES

I.3. CONDITIONS EXPERIMENTALES

1.3.1. Constitution des lots

1.3.2. Entretien des animaux

1.3.3. Examens effectués

II - RESULTATS

2.1 INOCULATION PAR VOIE INTRAMUSCULAIRE

2.1.1. Histologie

2.1.1.1. Lot A

2.1.1.2. Lot B

a/ Types lésionnels

b/ Répartition des lésions

2.1.2. Virologie
2.1.2.1. Lot A
2.1.2.2. Lot B

2.1.3. Remarques

2.2. INOCULATION PAR VOIE OCULONASALE

2.2.1. Histologie
2.2.2. Virologie
2.2.3. Remarques

III - CONCLUSION

B/ ETUDE DU POUVOIR PATHOGENE DU VIRUS DE L'EMIA SUR LES OEUFS EMBRYONNES DE FAISAN, DE PERDRIX GRISE ET DE PERDRIX ROUGE

I - MATERIEL ET METHODES

I.1. Virus utilisé
I.I.1. Contrôle du pouvoir pathogène
I.1.2. Constitution du stock de virus
I.1.3. Titrage sur oeufs de poule EOPS

I.1.3.1. Etude qualitative
I.I.3.2. Etude quantitative

I.2. OEUFS UTILISES

I.3. CONDITIONS EXPERIMENTALES

I.3.1. Protocole
I.3.2. Examens effectués
I.3.3. Contrôle de la présence du virus dans les embryons lésés.

II - RESULTATS

2.1. OEUF EMBRYONNES DE FAISAN

2.1.1. Examen qualitatif
2.1.2. Examen quantitatif

2.2. OEUFS EMBRYONNES DE PERDRIX GRISE

2.2.1. Examen qualitatif
2.2.2. Examen quantitatif

2.3. OEUF EMBRYONNES DE PERDRIX ROUGE

2.3.1. Examen qualitatif
2.3.2. Examen quantitatif

2.4. CONTROLE DE LA PRESENCE DU VIRUS DANS LES EMBRYONS LESES

2.4.1. Principe
2.4.2. Résultats

III - CONCLUSION

CONCLUSIONS GENERALES

REMERCIEMENTS

Nous voulons remercier particulièrement ici l'Office National de la Chasse qui a financé cette étude, le Laboratoire de Recherches Vétérinaires de PLOUFRAGAN, la station de Pathologie Aviaire INRA de NOUZILLY et le Centre Expérimental de Saint Benoist au PERRAY en YVELINES qui ont fourni le matériel nécessaire à cette étude.

INTRODUCTION

L'accroissement de la demande et le développement des techniques ayant permis l'essor de l'aviculture industrielle, on a vu éclore et se répandre des maladies alors inconnues comme, par exemple, l'encéphalomyélite infectieuse avaire, découverte chez la poule en 1930.

Devant la multiplication des élevages de gibier, il paraissait important de déterminer l'incidence possible de cette maladie chez quelques oiseaux sauvages à savoir le faisan, la perdrix grise et la perdrix rouge.

Notre étude comprendra donc deux parties :

Dans la première partie est développée une mise au point bibliographique sur l'encéphalomyélite infectieuse aviaire.

Dans la seconde partie sont rapportés les résultats d'une étude expérimentale effectuée dans le Service de Microbiologie-Immunologie-Pathologie générale de l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE, pour tenter d'apprécier le pouvoir pathogène du virus de l'EMIA sur les adultes et sur les oeufs embryonnés de ces trois espèces de galliformes.

PREMIERE PARTIE

MISE AU POINT BIBLIOGRAPHIQUE SUR L'ENCEPHALOMYELITE INFECTIEUSE AVIAIRE

I/ DEFINITION - SYNONYMIE - HISTORIQUE

L'encéphalomyélite infectieuse aviaire (EMIA) est une maladie virale, contagieuse, virulente et inoculable dont les symptômes varient en fonction de l'âge des oiseaux atteints: les jeunes présentent des troubles essentiellement nerveux, alors que les adultes voient diminuer fortement leurs performances zootechniques (ponte, taux d'éclosion...).

Transmis sur le mode horizontal et vertical, le virus spécifique provoque des lésions nerveuses et viscérales ainsi que la formation d'anticorps sériques neutralisants. La diffusion quasi-universelle de la maladie fut à l'origine de nombreuses recherches qui permirent la mise au point de méthodes originales de prophylaxie.

Découverte en 1930 au Canada par Elizabeth JONES, l'EMIA fut successivement appelée Encéphalite (Jones 1932), Epidemic Tremor (Jones 1934), Encéphalomyélite infectieuse aviaire (Van Roekel et coll. 1938 - 1939). Aujourd'hui, c'est le terme d'Encéphalomyélite infectieuse aviaire qui est officiellement reconnu.

A partir du Canada en 1930, l'EMIA s'est répandue dans tout le continent nord-américain. Elle atteint l'Australie en 1940, le Congo en 1954, l'Angleterre en 1955, puis l'Afrique du Sud en 1956, la Suède et la France (1957), la Hollande et la Corée (1958) la Belgique (1960), l'Allemagne (1961), le Brésil et le Pérou (1962) la Bulgarie (1964) et la Yougoslavie (1965). Aujourd'hui, la maladie est mondialement répandue.

II/ VIROLOGIE

2.1. LA PARTICULE VIRALE

2.1.1. Classification

Le virus de l'EMIA appartient à la famille des PICORNAVIRIDAE et au genre Entérovirus.

2.1.2. Caractères morphologiques

C'est un virus à symétrie icosaédrique, non enveloppé, de 16,5 à 25 nanomètres (Butterfield, 1969). La capside comprend 32 capsomères. Des études en microscopie électronique ont mis en évidence, dans le gésier et le pancréas des animaux atteints, la présence d'agrégats cristallins de particules denses, grossièrement polygonales d'environ 18 nm de diamètre, pouvant représenter le virus (Asdrubali et coll. , 1972).

2.1.3. Propriétés chimiques

2.1.3.1. Composition chimique

- L'acide nucléique est une molécule unique d'ARN monocaténaire de polarité + (brin à fonction de

messager)

- Les protéines de la capside sont encore assez mal connues, mais sont le support du pouvoir antigénique du virus.

2.1.3.2. Résistance aux agents chimiques

Le virus de l'EMIA est résistant à l'éther, au chloroforme, à la trypsine et à la pepsine, mais est rapidement inactivé par le formol, le phénol, la bétapropiolactone, les hypochlorites et les sels d'ammoniums quaternaires.

La meilleure stabilisation contre l'inactivation à 56° est obtenue par l'utilisation d'une solution de chlorure de magnésium (Von Bülow, 1964).

Enfin, la lyophilisation est délicate, ce qui rend problématique la fabrication industrielle de vaccins lyophilisés.

2.2. CULTURE

La culture du virus de l'EMIA peut être réalisée in vivo sur le poussin, sur oeuf embryonné ou sur cellules in vitro.

2.2.1. Culture sur poussin

La culture du virus in vivo est réalisée sur des poussins EOPS d'un jour inoculés par voie intracérébrale ou orale, puis placés en observation sous une éleveuse pendant au moins 40 jours. Si aucun symptôme ne se manifeste, on pratique alors un examen histologique du système nerveux et des viscères digestifs (pancréas, gésier, proventricule) Willemart (1965), Willemart et Dupond (1967).

2.2.2. Culture sur oeuf embryonné

On utilise des oeufs embryonnés de poule provenant d'un élevage indemne d'EMIA, donc sans anticorps, que l'on inocule avec un broyat de cerveau de poussin malade. On peut également employer comme inoculum un broyat total d'oeuf suspect. Après filtration ou centrifugation pendant 10 minutes à 5.000 tours/mn, on stérilise la suspension par addition de Pénicilline et de Streptomycine (Willemart 1965).

Von Bülow (1965) préconise la purification de l'inoculum par le chloroforme pendant 24 heures à +4°C alors que Gayot et coll. (1962) utilisent le mélange chloroforme-alcool isoamylique.

La voie d'inoculation la plus communément employée est la voie intra-vitelline. C'est elle que nous avons utilisée pour l'expérimentation sur les oeufs embryonnés de gibier.

Les voies intraoculaires et chorio-allantoïdiennes peuvent également être employées.

Après inoculation on ne retourne pas les oeufs pendant trois jours afin d'éviter une mort précoce non spécifique (Willemart et Dupond 1967).

RESULTATS: 7 à 10 jours après inoculation, les embryons présentent des signes de faiblesse (mouvements rares et peu intenses). Certains meurent (immobilité, vaisseaux chorio-allantoïdiens effacés, absence de battements cardiaques).

Les titres maximum en virus varient selon la date et la voie de l'inoculation, la souche virale utilisée, la nature et la date de prélèvement. Par exemple, Burke, Krauss et Luginbuhl (1965) donnent les résultats suivants (tableau 1) :

- souche utilisée = Van Roeckel
- prélèvement 9 jours après inoculation

Prélèvement	Taux (DIE 50/ml)
Cerveau	$10^{6,4}$
Embryon total	$10^{5,8}$
Membrane chorioallantoïdienne	10^{4}
Sac vitellin	$10^{3,7}$
Liquide allantoïdien	$10^{1,7}$

DIE 50 = Dose infectant 50 p.100 des embryons

Tableau 1 : Culture sur oeuf embryonné

2.2.3. Culture sur cellules in vitro

Les premiers, Kliger et Olitzky (1940) ont tenté la culture du virus selon la méthode de Maitland : fragment d'embryon total + sérum de poussin.

D'autres essais ont été effectués sur divers systèmes cellulaires : rein d'embryon de poulet, rein de singe, cerveau d'embryon de poulet, fibroblastes d'embryon de poulet, pancréas de poulet.

Mancini et Yates (1967-1968) obtiennent les meilleurs résultats sur couches monocellulaires de nevroglie d'embryon de poulet :

RESULATS : $10^{3,2}$ DIE 50/ml dès 48 heures après inoculation et $10^{5,5}$ DIE 50/ml 15 jours après inoculation.

L'effet cytopathogène signalé par Hwang, Luginbuhl et Jungherr (1959) serait dû à une contamination des cultures par un adénovirus. Cet effet cytopathogène n'a jamais été retrouvé par la suite.

2.3. POUVOIR PATHOGENE

Le pouvoir pathogène du virus de l'EMIA est variable selon les souches rencontrées.

2.3.1. Tropisme

Les travaux de Willemart (1965) sur différentes souches isolées en France montrent des variations du tropisme, de la rapidité d'apparition et de la nature des symptômes chez des poussins issus d'oeufs inoculés et des variations du taux d'éclosabilité des oeufs embryonnés.

Ainsi, les souches à fort neurotropisme sont peu entérotropes alors que les souches entérotropes ne provoquent que peu de lésions nerveuses.

Chez l'embryon de poulet, les lésions classiques furent décrites dès 1956 par Jungherr et coll. après adaptation du virus par passage en série. Ces lésions sont :

Immobilité, amyotrophie, membres raides,
Doigts tordus, nanisme, hydrocéphalie interne,
Non-résorption du vitellus, mortalité embryonnaire tardive.

KAISER (1963) a montré que la non-résorption du vitellus est due à une diminution des besoins nutri-

tionnels de l'embryon.

Chez le poussin malade, les signes cliniques sont essentiellement nerveux : ataxie, paralysie, tremblements. Les adultes, quant à eux, n'extériorisent la maladie que par une chute du taux de ponte.

2.3.2. - Intensité du pouvoir pathogène

Enfin, l'intensité du pouvoir pathogène varie selon les souches de virus. C'est ainsi qu'ont été isolées des souches entérotropes apathogènes très contagieuses et très immunogènes (Calnek 1961, Hoekstra 1964) permettant la fabrication de vaccins vivants.

2.4. POUVOIR ANTIGENIQUE

Le virus de l'EMIA se caractérise par son unicité antigénique. Un seul type sérologique du virus est actuellement connu (Butterfield et coll. 1969) entraînant la formation d'anticorps neutralisants. Ces anticorps assurent la protection des animaux vaccinés mais aussi celle de leur descendance, puisqu'ils sont transmis au poussin par la voie vitelline.

Enfin, les anticorps neutralisants sont à l'origine de la technique de séroneutralisation permettant ainsi le diagnostic sérologique de la maladie. La séroneutralisation a permis de mettre en évidence 15 sérotypes différents d'entérovirus, chez le poulet normal de 4-12 semaines. Le virus de l'EMIA est l'un de ces 15 sérotypes, particulièrement neurotrope.

GAYOT et coll. (1962) ont montré que le virus de l'EMIA ne présentait pas d'immunité croisée avec les arbovirus responsables des encéphalites américaines de

l'Est, de l'Ouest et de Saint Louis, ni avec d'autres entérovirus.

Récemment, les techniques d'immunofluorescence ont été appliquées avec succès à la recherche du virus dans le pancréas et le gésier par Gialletti et coll. à l'université de Pérugia (Italie) et par Miyamae à l'université de Sapporo (Japon).

III - EPIDEMIOLOGIE

3.1. - EPIDEMIOLOGIE ANALYTIQUE

3.1.1. - Sources de virus

Les sources de virus sont représentées par les oeufs infectés, les animaux malades et les animaux infectés de façon inapparente.

L'extension de la maladie en Europe semble, en effet, due à l'importation d'oeufs infectés. Les poussins naissant de ces oeufs contaminaient alors les animaux sains vivant avec eux. De même, les élevages naisseurs vendant des poussins d'un jour apparemment sains mais porteurs de virus ont contribué à la diffusion de l'EMIA sur tout le territoire français.

Enfin, les adultes reproducteurs porteurs de virus sont des sources redoutables de virus dans la mesure où les femelles contaminent les oeufs qui sont ensuite dispersés lors d'opérations commerciales, et les mâles contaminent leur entourage par excrétion fécale de virus.

3.1.2. - Résistance

Le virus de l'EMIA est totalement résistant au froid. On peut le conserver 20 ans à l'état congelé (Calnek 1961) ; Von Bülow (1964) note que le virus garde tout son pouvoir infectieux après 41 semaines à + 4°C.

Par contre, l'action de la chaleur sur le virus entraîne une inactivation plus rapide (6 heures à +56°C). Cependant, Feibel et coll. (1952) signalent, après une enquête portant sur 10 ans, qu'un accouveur s'est montré contaminant pendant ces 10 années, 4 accouveurs donnant des poussins infectés pendant huit ans.

Le virus est inactivé par les désinfectants usuels tels que les hypochlorites, le formol, le phénol et les sels d'ammoniums quaternaires.

3.1.3. - Transmission

La transmission du virus est directe ou indirecte, verticale et horizontale (Calnek et coll.1960).

3.1.3.1. - Transmission directe

a/ Transmission horizontale

Un animal porteur excrète, par le cloaque, de grandes quantités de virus qui contaminent alors tous les animaux du même troupeau. Dans ce cas, la pénétration se fait par voie orale ou oculonasale, puis le virus gagne secondairement le système nerveux.

b/ Transmission verticale

Une pondeuse porteuse de virus contamine le vi-

tellus des oeufs qu'elle produit. L'embryon est alors infecté de façon massive et, s'il ne meurt pas avant la fin de l'incubation, donne un poussin cliniquement malade et excréteur de virus. Les fèces de ces poussins malades contaminent alors les autres animaux de l'éclosoir.

3.1.3.2. - Transmission indirecte

Le virus peut être introduit dans un élevage sain par l'apport d'objets souillés provenant d'un élevage contaminé. Les adultes s'infectent alors mutuellement à partir de leurs excréments et contaminent leurs oeufs. Enfin, Feibel (1952) a montré que la persistance du virus dans les accouveurs pouvait être à l'origine de la pérennité de la maladie dans un élevage.

On devra donc porter une attention particulière à la qualité de l'eau et des aliments, à la désinfection des locaux et des véhicules, la transmission du virus pouvant être réalisée par le vent.

3.1.4. - Réceptivité

La réceptivité est fonction de l'espèce, de la race et de l'âge. Il existe aussi des variations individuelles.

3.1.4.1. - Espèce

Il existe des espèces naturellement sensibles, d'autres sensibles dans les conditions expérimentales et d'autres enfin totalement résistantes.

Van Steenis (1971) a mis en évidence des anticorps neutralisants chez la perdrix, le faisan et la dinde, mais pas chez les passereaux (étourneau, moineau)

les corbeaux, les pigeons ou les canards. Après contamination orale à l'aide de la souche ViF6, l'analyse des sérums fournit les mêmes résultats.

Les espèces naturellement sensibles sont donc la poule, la dinde, la caille, le faisan et la perdrix.

Expérimentalement, le caneton, les pintadeau et le pigeonneau se montrent eux aussi sensibles.

Enfin, les passereaux, les corbeaux, les pigeons et les canards adultes, et les mammifères (souris, cobaye, lapin, veau, macaque) sont insensibles.

3.1.4.2. - Race

Hunton (1963) a observé des différences notables de résistance à l'EMIA entre les races Rhode Island et Light Sussex.

Badstue (1963) note que les hybrides sont plus sensibles que les animaux de race pure. En fait, il semblerait que la race n'ait une influence que sur la durée d'incubation et la gravité de la maladie. On peut donc penser que la sélection d'une race résistante n'est pas envisageable à court ou moyen terme (Brion et coll. 1972).

3.1.4.3. - Age

L'EMIA n'est cliniquement rencontrée que sur les poussins infectés in ovo ou dès les premières heures de leur vie et sur les poulettes infectées lors de l'entrée en ponte.

Récemment, Westbury et Sinkovic (1978) ont montré que les poussins âgés de 1, 7 et 14 jours étaient plus sensibles et produisaient moins d'anticorps que les pous-

sins âgés de 21 et 28 jours. Ils ont également démontré que chez les poussins plus âgés lors de l'infection, la virémie était faible et fugace, la maladie bénigne et le taux d'anticorps élevé.

3.1.4.4. - Individu

Westbury et Sinkovic (1978) ont étudié l'effet de l'immuno-dépression et le rôle des anticorps maternels sur l'évolution de la maladie : l'injection d'immunodépresseurs, tels que la cyclophosphamide ou la bursectomie provoquent une diminution de la réaction immunitaire des poussins et ce, quel que soit leur âge. La présence d'Ac maternels dans le vitellus permet une protection de l'embryon et du poussin, même après immunodépression, et une diminution de l'excrétion fécale de virus chez des animaux infectés par voie orale.

Ces travaux montrent l'importance des facteurs individuels (état d'entretien des animaux, immunodépression due à une maladie intercurrente, stress de vermifugation, stress de contention), et de la vaccination des pondeuses (protection des jeunes) dans l'éclosion et l'évolution de la maladie.

3.2. - EPIDEMIOLOGIE SYNTHETIQUE

3.2.1. - Dans un élévage sain

La maladie se déclare dans un élévage sain non vacciné, par l'introduction imprudente d'animaux porteurs par exemple un coq. L'extension est alors rapide et bientôt le troupeau entier est contaminé. Les bâtiments et

tout le matériel en contact avec les animaux sont infectés pour un temps parfois très long. La chute de ponte, la baisse du taux d'éclosabilité (par mortalités embryonnaires nombreuses), les mortalités néonatales et la morbidité importante chez les jeunes durent quelques semaines, puis tout rentre dans l'ordre. L'éleveur se croit débarrassé de la maladie, mais l'introduction d'animaux sensibles provoque une nouvelle catastrophe.

3.2.2. - Dans un pays

L'apparition de la maladie est due à l'importation d'oeufs embryonnés ou d'animaux infectés.

Les oeufs donnent des poussins malades qui contaminent leurs congénères mais aussi les éclosoirs. Les poussins porteurs sont vendus et assurent la dissémination de la maladie.

3.2.3. - Dans le temps : fluctuations saisonnières

On avait remarqué que la maladie éclatait en automne et en hiver pour disparaître au printemps et en été. En fait, cela était dû à la période d'entrée en ponte des animaux sains et surtout des poulettes. Aujourd'hui, les besoins en poulets de chair sont tels que la production est répartie sur l'année. La maladie sévit donc elle aussi tout au long de l'année.

: fluctuations pluriannuelles

Après contamination ou vaccination, tous les animaux sont immunisés. Mais au bout de quelques mois ou quelques années, si des rappels de vaccination ne sont

pas effectués ou si les animaux n'ont pas entretenu leur contamination, l'immunité sera très faible, voire nulle. La maladie pourra éclore à nouveau, provoquant les dégâts développés dans l'étude clinique.

IV - ETUDE ANATOMO-CLINIQUE

4.1. - INCUBATION

Expérimentalement, Willemart (1965) a montré que, lors d'infection embryonnaire, les symptômes apparaissaient au plus tard le 10ème jour de vie des poussins.

Si l'infection a lieu au cours des premières heures de la vie, l'incubation est de 14 jours lors d'inoculation intracérébrale et de 21 jours lors d'administration orale.

Chez les adultes, l'incubation moyenne est de 10 jours.

Il convient de noter que la durée de l'incubation dépend de l'âge des animaux, de la virulence et du tropisme du virus et de la voie d'inoculation (Willemart 1965, Westbury et Sinkovic 1978).

4.2. - SYMPTOMES

4.2.1. - Forme aiguë

La forme aiguë, rare, ne frappe que les poussins nouveaux-nés. L'évolution vers la mort est rapide. La morbidité et la mortalité sont égales et touchent parfois 100 p.100 de l'effectif.

4.2.2. - Forme classique

4.2.2.1. - Chez l'embryon

On remarque, au mirage, la faiblesse ou l'inactivité de l'embryon. La mortalité embryonnaire est maximale dans les trois derniers jours de l'incubation, le taux d'éclosion est nettement diminué.

4.2.2.2. - Chez le poussin

Le premier symptôme est une mortalité importante pendant les 10 premiers jours de la vie. On rencontre parfois une diarrhée blanchâtre (rappelons l'entérotropisme du virus). Après le 15ème jour de vie, les symptômes typiques apparaissent : ataxie, paralysie, tremblement. Ces symptômes sont isolés ou associés.

. Ataxie :

Les poussins sont abattus, répugnent à se déplacer, leur démarche est vacillante, hésitante et semble difficile. Les chutes sont fréquentes, le relever pénible. L'ataxie est rencontrée chez 75 p.100 des malades (Willemart 1965).

. Paralysie :

La paralysie s'installe progressivement chez 30 p. 100 des malades. Elle conduit généralement à la mort par inanition, piétinement ou étouffement.

. Tremblement :

Bien qu'il fut le premier décrit (Jones 1932), le tremblement est inconstant. Il est surtout localisé

au niveau de la tête et du cou. Il est rencontré chez 20 p. 100 des animaux malades (Willemart 1965). Des crises de tremblements (200 à 250 par minute) peuvent être déclenchées par une forte excitation.

La morbidité est en moyenne de 30 p.100. L'évolution se fait soit vers la mort (environ 50 p.100 des malades), soit vers la guérison. Dans ce cas, les poulettes peuvent être gardées pour la ponte alors que le fort retard de croissance rend anti-économique la conservation des poulets de chair.

Chez le faisandeau, le cailleteau et le dindonneau, les symptômes et l'évolution sont identiques à ceux décrits chez le poussin. Seules varient la morbidité et la mortalité.

4.2.2.3. - Chez l'adulte

Le mâle ne présente aucun symptôme.

La femelle est d'abord apathique, l'indice de consommation diminue légèrement, une légère augmentation de mortalité est constatée,puis apparaissent les troubles de ponte et la baisse du taux d'éclosion (chez les reproductrices). Riggenbach (1969) signale aussi une diminution de la grosseur des oeufs.

La baisse du taux de ponte peut atteindre 50. p. 100 sur l'ensemble du troupeau, certains animaux arrêtant de pondre pendant quelques jours alors que d'autres ne manifestent aucun trouble. La courbe de ponte présente un "V" caractéristique.

La baisse du taux d'éclosion, chez les reproductrices, est en moyenne de 20 p.100. Les poussins qui naissent durant cette période sont infectés, certains présentent des anomalies caractéristiques .

La morbidité est de 75 à 80 p.100, la mortalité ne dépassant pas 1 p.100.

L'évolution se fait vers la guérison sans séquelles en 2 à 3 semaines. Cependant les oeufs resteront contaminés pendant près d'un mois.

Chez la dinde et la caille, la maladie se traduit par une baisse du taux de ponte. Chez ces deux espèces et chez le faisan qui fait une maladie inapparente, le virus est transmis aux jeunes par l'intermédiaire du vitellus.

4.2.3. - Forme chronique

En 1966, Willemart et Schricke ont décrit une forme chronique de l'EMIA dans un troupeau de reproductrices en Bretagne. Les poules présentaient une baisse durable du taux de ponte, les poussins nés dans l'élevage étaient tous porteurs de virus, le taux d'éclosion était inférieur à la moyenne. Deux pics de mortalité espacés de 13 semaines furent constatés.

Le manque de moyens n'a pas permis une étude plus poussée de cette forme chronique qui pourrait être due à une souche virale peu immunogène.

4.2.4. - Cataracte enzootique

De nombreux auteurs ont signalé l'existence d'enzooties de cataracte et d'iridocyclite dans les élevages atteints ou ayant été atteints d'EMIA (Brion et coll. 1960, Gayot et coll. 1962, Riggenbach 1969, Girgin 1971...)

La question de l'étiologie et de la pathogénie de ces cataractes reste posée, la preuve ayant été faite que, si certaines peuvent être causées par le virus de l'EMIA, d'autres n'ont aucun rapport avec la maladie.

4.3. - LESIONS

4.3.1. - Lésions macroscopiques

4.3.1.1. - Chez l'embryon

Les lésions macroscopiques dues à l'infection expérimentale par le virus de l'EMIA sont nombreuses chez l'embryon. Elles consistent en une amyotrophie marquée surtout au niveau des pattes. Les membres sont raides, les doigts tordus. La taille de l'embryon est inférieure à la moyenne (nanisme), le vitellus est incomplètement résorbé.

Enfin on note une hydrocéphalie interne importante.

4.3.1.2. - Chez le poussin

Burtscher (1961) signale les lésions suivantes chez le poussin :

- persistance du sac vitellin et dégénérescence graisseuse du foie sans doute dues à la maladie de l'embryon.

- Dilatation du cloaque due à une paralysie de l'intestin ou à une fausse constipation (obstruction par les plumes souillées de diarrhée).

- Entérite catarrhale et splénomégalie non pathognomonique.

4.3.1.3. - Chez les poulets et les adultes

Aucune lésion macroscopique caractéristique n'est visible chez les adultes à l'exception des lésions oculaires.

Girgin (1971) a décrit les lésions suivantes sans toutefois conclure à leur spécificité.

- Iridocyclochoroïdite, uvéite, endophtalmie, cataracte, décollements et anomalies rétiniennes, synéchies.

4.3.2. - Lésions microscopiques

Contrairement aux lésions macroscopiques qui sont peu nombreuses et peu spécifiques, les lésions microscopiques sont plus prononcées. Elles ont pour siége le système nerveux, les viscères, les muscles et l'oeil.

4.3.2.1. - Les lésions nerveuses

Elles traduisent une encéphalomyélite non suppurée.

Au début, on note surtout une dégénérescence vacuolaire et une neuronophagie des cellules ganglionnaires motrices de la corne ventrale de la moelle épinière. Le noyau se déplace vers la membrane cellulaire, le cytoplasme se vacuolise, le neurone est lysé petit à petit. Puis les lésions atteignent le bulbe et le cervelet. On remarque une pycnose des cellules ganglionnaires puis des cellules de Purkinje.

La réaction encéphalique est plus tardive. Elle est caractérisée par une prolifération diffuse ou nodulaire des cellules de la névroglie et la formation de manchons lymphocytaires périvasculaires avec hyperplasie de l'endothélium vasculaire, dans la substance grise de la moelle épinière, du bulbe et du cervelet.

Une discrète réaction méningée peut être parfois observée sous la forme de quelques amas de cellules lymphoïdes, plus particulièrement au niveau des plexus choroïdes. Les nerfs périphériques ne sont que très rarement et légèrement atteints. Girgin (1971) signale des lésions de gliose du nerf optique et de fragmentation des neurones des photorécepteurs.

Si l'animal ne succombe pas à sa maladie, les lésions nerveuses régressent petit à petit en même temps qu'on assiste à la récupération fonctionnelle.

4.3.2.2. - Les lésions viscérales

Après inoculation par voie intravitelline, l'embryon présente une myopathie dégénérative qui évolue rapidement vers la lyse quasi-totale des muscles striés.

Chez l'adulte, la microscopie photonique permet de visualiser des amas lymphocytaires dans de nombreux organes. Par ordre de fréquence, on observe ces foyers de cellules mononucléées dans le pancréas (+ de 70 % des cas), dans la musculeuse du ventricule succenturié et du gésier (40%), dans les autres viscères (foie, rate...) et enfin dans les muscles striés.

Philipson (1962) dénie l'importance du proventricule et du gésier dans l'établissement du diagnostic. Selon lui, on trouve des amas lymphocytaires chez seulement 32 p. 100 des animaux malades mais aussi chez 6,6 p. 100 des animaux sains.

Plus récemment, Asdrubali et coll. trouvent que les lésions histopathologiques sont très importantes dans le gésier et le pancréas dès le 10ème jour après inoculation alors qu'elles restent toujours moyennement abondantes dans le proventricule et les muscles squelettiques et discrètes dans le myocarde et le rein.

Les mêmes auteurs ont mis en évidence, en microscopie électronique, des amas de virus dans le gésier et le pancréas.

Cheville (1971) avait, lui aussi, observé le virus en microscopie électronique dans les lésions de myopathie au point d'inoculation intramusculaire, chez des poulets bursectomisés.

V - DIAGNOSTIC

5.1. - DIAGNOSTIC CLINIQUE

Une baisse du taux d'éclosion, une mortalité précoce et des troubles nerveux (ataxie, paralysie, tremor) observés chez les jeunes poussins, une baisse du taux de ponte, une courbe de ponte en "V" chez les adultes, sont les éléments de suspicion clinique de l'EMIA. Le diagnostic doit être confirmé par la mise en oeuvre d'examens histologiques, virologiques et immunologiques.

5.2. - DIAGNOSTIC EXPERIMENTAL

5.2.1. - Diagnostic histologique

Le diagnostic histologique est fondé sur la recherche et la mise en évidence dans les différents tissus des lésions microscopiques décrites au paragraphe 4.3.2.. Pour cela, on prélèvera, après sacrifice des animaux malades, le système nerveux central (cerveau, cervelet, moelle), le pancréas, le ventricule succenturié et le gésier. La conservation des prélèvements se fait par congélation ou immersion dans le liquide de Bouin ou le formol à 10 pour 100. Le diagnostic ne sera certain que si l'on rencontre des lésions de dégénérescence vacuolaire et des manchons périvasculaires dans le système nerveux, des infiltrations lymphoïdes dans la musculeuse du proventricule et du gésier et enfin des nodules lymphocytaires dans le pancréas (Brion et coll. 1972).

5.2.2. - Diagnostic virologique

La mise en oeuvre du diagnostic virologique nécessite l'utilisation d'oeufs embryonnés ou de poussins sensibles et dépourvus d'anticorps anti-EMIA. La méthode employée est celle décrite au paragraphe 2.2.Le diagnostic peut, en général, être établi au bout de 2 à 6 semaines.

5.2.3. - Diagnostic immunologique

5.2.3.1. - Mise en évidence du virus par immunofluorescence directe

La technique d'immunofluorescence permet un diagnostic rapide, ce qui n'est pas le cas, nous le verrons plus loin, des méthodes de mise en évidence des anticorps.

Les anticorps anti-EMIA sont recueillis à partir du sérum d'animaux vaccinés ou infectés expérimentalement (souche Van Roekel) puis marqués à l'isothiocyanate de fluorescéine.

Les coupes (6μ d'épaisseur) d'organes suspects congelés sont fixées à l'éthanol absolu durant 10 minutes à température ambiante, puis trempées dans un tampon phosphate (pH = 7,4) avant d'être mises au contact des anticorps marqués pendant une heure à 37°C en chambre humide. Les coupes sont ensuite lavées dans le tampon, séchées puis montées dans la glycérine tamponée à pH = 9 pour examen (Miyamae 1974).

Résultats

. Asdrubali et coll. (1972) ont mis le virus en évidence, par la technique de l'immunofluorescence:

- dans l'encéphale..... 9 jours après inoculation
- dans le proventricule et le gésier 6 jours " " "
- dans le pancréas..... 5 " " "
- dans le rein..... 8 " " "

Les lésions histologiques n'apparaissent que 2 à 3 jours après.

. Miyamae (1974-1977) a recherché la présence du virus sur des poussins d'un jour et des poulets de 19 jours naturellement infectés et présentant tous des signes cliniques d'EMIA. Les meilleurs résultats sont obtenus chez des sujets d'1 jour chez qui le virus est abondant au niveau du cervelet, des ganglions spinaux, du foie, du coeur, de la rate, du rein, du pancréas, du jabot, des muscles du proventricule, du gésier, du duodénum et des muscles des pattes. Dans le cerveau lui-même, la fluorescence montre la présence, en quantité plus faible, du virus.

. Ide (1974) obtient les meilleurs résultats en utilisant des coupes congelées de cervelet et de pancréas provenant de poulets âgés de 3 semaines.

. Asdrubali (1972) et Miyamae (1974) ont également montré que le virus ne persistait dans le tissu nerveux et le pancréas que rarement après l'âge de 26 jours et jamais après 30 jours. Dans les autres tissus, la présence du virus est encore plus brève. Les lésions histologiques, quant à elles, sont beaucoup plus persistantes.

5.2.3.2. - Mise en évidence des anticorps

Le matériel est constitué d'une souche connue de virus (souche Van Roekel) et d'oeufs embryonnés ou de sérum provenant des animaux suspects. On dispose de deux méthodes :

- l'épreuve de sensibilité de l'embryon et la séroneutralisation.

a/ Epreuve de sensibilité de l'embryon

Deux techniques sont utilisables : le titrage
la dose standard

. Technique du titrage :

On inocule 0,2 ml de dilutions croissantes (10^{-1}, 10^{-2},...) d'une préparation mère (souche Van Roekel) à des embryons de 6 jours témoins et suspects.

La lecture a lieu au 18ème jour d'incubation. Après examen macroscopique des embryons, on calcule le titre du virus chez les témoins (X) et les suspects (Y).

. Si X - Y 2, le troupeau est immun.

. Si X - Y 2, l'immunité est faible, soit en train de s'installer, soit en train de disparaître. Il convient donc de réaliser de nouveaux examens 15 jours plus tard.

. Si X - Y = 0, le troupeau est indemne de contact avec le virus.

. Technique de la dose standard

20 embryons de 6 jours sont inoculés avec 100 DMIE (0,2 ml). La lecture a lieu au 18ème jour d'incubation. (DMIE = Dose Minimum Infectant l'Embryon).
Si tous les embryons sont lésés, l'immunité est nulle donc le troupeau est indemne.
Si le nombre d'embryons lésés est compris entre 0 et 50 p. 100, le troupeau est immun.
Si 50 à 100 p. 100 des embryons sont lésés, l'immunité est soit en cours d'installation, soit en cours de disparition. Dans ce cas, il convient de réaliser un nouvel examen 15 jours plus tard.

b/ Séroneutralisation

Comme dans la technique du titrage, on injecte un virus connu à des oeufs embryonnés. Un lot d'embryons reçoit le virus seul alors que l'autre lot reçoit un mélange virus + sérum suspect. Au 18ème jour d'incubation, on calcule le titre X du virus seul et le titre Y du mélange virus + sérum suspect.
L'index de neutralisation (I.N.) est égal à X - Y.

. Si I.N. = 0 pas d'immunité
. Si I.N. $\leqslant$ 1 immunité faible, nouveaux examens
. Si I.N. $\geqslant$ 1,1 L'immunité est bonne.
en moyenne, 1,5 I.N. 3 lors d'une infection récente.
Lors d'une réinfection, I.N. Peut atteindre des valeurs de 4 ou 5

Conclusion

Les méthodes immunologiques sont longues et nécessitent un matériel particulier. Cependant, elles restent le seul moyen de diagnostic de la maladie chez les adultes tant que l'immunofluorescence ne sera pas plus

répandue. Enfin, ces méthodes sont la base des enquêtes épidémiologiques.

5.3. - DIAGNOSTIC DIFFERENTIEL

L'EMIA ne doit pas être confondue avec d'autres maladies à expression nerveuse.

Le tableau suivant donne les principaux éléments de diagnostic différentiel. En cas de doute, il convient, bien entendu, de recourir au diagnostic expérimental.

Nous citons pour mémoire quelques autres affections qui présentent parfois des symptômes voisins :

. La toxoplasmose : troubles d'équilibre, plumage hérissé
griffes rétractées
nombreux polynucléaires et plasmocytes.

. L'avitaminose B1 : ataxie, opisthotonos,
dégenérescence nerveuse en zone périphérique
diagnostic thérapeutique possible

. La mycoplasmose : rare, encéphalite
leptoméningite non purulente importante.

Enfin, on différenciera facilement les maladies articulaires des boiteries d'origine nerveuse

Tableau 2 - Eléments du diagnostic différentiel de l'EMIA
(Voir à la page suivante).

TABLEAU 2 : ELEMENTS DU DIAGNOSTIC DIFFERENTIEL DE L'EMIA .

		E.M.I.A.	Maladie de NEWCASTLE	Maladie de MAREK	Encéphalomalacie	Paralysie transitoire	Encéphalomyélite atypique
Etiologie		Entérovirus	Paramyxovirus (pouvoir hémagglutinant)	Herpès Virus (groupe B)	Carence en vitamine E	Inconnue	Inconnue
Epidémiologie		Animaux de 1j à 4 sem. et de plus de 20 sem. Morbidité = 2 à 50 p.100 Grande contagiosité Incubation = 1 à 2 sem.	Animaux de tous âges Morbidité = 100 p.100 Très grande contagiosité Incubation = 5 à 7 jours	Animaux jusqu'à 8 sem. Morbidité = 50 à 60 p.100 Contagiosité moyenne Incubation = 1 à 8 mois	Animaux de 2 à 4 sem. malades ou parasités Morbidité rare en élevage moderne	Animaux vers la 12e sem. Morbidité variable	Animaux vers la 16e sem.
Symptômes		Poussins: Ataxie Paralysie Tremblements Adultes : Baisse de ponte (courbe de ponte en V)	Catarrhe oculonasal Diarrhée Convulsions, paralysie, Pertes d'équilibre Chute brutale et parfois définitive de ponte	Incoordination motrice Ataxie, cou tordu Paralysies flasques Iridocyclite (iris gris vert et pupille anguleuse) Amaigrissement avec conservation de l'appétit	Opisthotonos Pleurotonos Pertes d'équilibre Chutes avec mouvements de pédalage Paralysies	Paralysie flasque des muscles du cou, des ailes et des extenseurs	Paralysie spastique Troubles digestifs Arrêt de croissance
Lésions	Macroscopiques	Embryon: Nanisme Amyotrophie Doigts tordus Poussin: Persistance du sac vitellin Dilatation du cloaque Entérite catarrhale Splénomégalie Adulte: rien	Septicémie = Pétéchies Congestion et hémorragie du proventricule, du cloaque, du coeur, des poumons et du système nerveux Lésions ulcéro nécrotiques des formations lymphoïdes du tube digestif	Nerfs: Epaississement diffus ou en foyer des racines des nerfs périphériques et viscéraux (sciatique, vague, brachial) Perte de couleur et de striation Viscères: Nodules lardacés (d'aspect tumoral) sur poumons, foie, reins, muscles et ovaires Entérite catarrhale Dilatation du jabot et du proventricule Atrophie du gésier	Inconstantes: . Suffusions . Oedème du cervelet (aspect succulent à la coupe)		Oedème du cervelet Méningite
	Microscopiques	Système nerveux central: Gliose, tigrolise, Neuronophagie Manchons périvasculaires Nerfs: normaux Viscères: Amas lymphoïdes (Pancréas, proventricule, gésier)	Système nerveux central: Nécrose de l'endothélium vasculaire Neuronophagie Manchons périvasculaires Nerfs: Inflammation et dégénérescence Viscères: Pancréatite interstitielle inconstante	Névrite chronique (infiltration périvasculaire de cellules lymphoïdes)	Surtout substance blanche du cervelet = Oedème, hyalinisation des parois vasculaires Nécrose des cellules ganglionnaires Sclérose	Périvascularite = gliose et manchons périvasculaires surtout dans la moelle	S.N.C et nerfs: Congestion Infiltration lymphoïde Manchons périvasculaires Neuronophagie Viscères: Infiltrations lymphoïdes (foie, gésier, pancréas) Inclusions nucléaires acidophiles dans le pancréas endocrine
Evolution		Mortalité: 50 à 80 p.100 Evolution en quelques semaines dans le troupeau Guérison possible Séquelles: mauvaises performances	Mortalité: 80 à 100 p.100 en quelques jours Evolution très rapide dans le troupeau Guérison rare Séquelles: cachexie stérilité ponte nulle ou faible	Mortalité: 70 à 100 p.100 en quelques semaines à quelques mois Evolution lente mais chronique dans le troupeau Guérison rare et toujours incomplète	Mortalité variable Evolution variable Guérison possible (vitamine E) Séquelles: non valeur économique	Mortalité faible Evolution en quelques semaines dans le troupeau Guérison en 24 à 36 h. Séquelles: souvent maladie de Marek	Mortalité: 50 p. 100 Evolution en quelques semaines dans le troupeau Guérison en quelques jours Séquelles: souvent maladie de Marek

VI - PRONOSTIC - TRAITEMENT

Le pronostic est grave surtout d'un point de vue économique, car les pertes et les retards de production sont importants.

Le traitement est illusoire. L'emploi de vitamines B1 et E donne des résultats aléatoires et est anti-économique.

Signalons enfin, qu'après une épidémie d'EMIA, on doit s'abstenir de vacciner contre la maladie de Newcastle pendant au moins huit semaines, des troubles nerveux risquant de réapparaître.

VII - PROPHYLAXIE

7.1. - PROPHYLAXIE SANITAIRE

Les mesures prophylactiques varient selon qu'on se situe dans un élevage infecté ou indemne.

7.1.1. - Milieu infecté

Les mesures envisagées visent à limiter l'extension de la maladie et à empêcher sa réapparition ultérieure.

. Au niveau des pondeuses : lorsqu'on constate la chute de ponte, il faut cesser la mise en incubation des oeufs provenant de ces poules pendant 4 à 6 semaines, afin d'éviter la naissance de poussins malades ou porteurs. On peut cependant livrer les oeufs à la consom-

mation humaine. On vaccinera les animaux sains.

- Au niveau des poussins : après séparation et élimination des malades, on isolera les animaux sains en formant des lots les plus petits possibles. On procèdera à la vaccination des animaux sains.

Dans les deux cas, une désinfection soignée s'impose. On aura recours aux désinfectants usuels tels que les hypochlorites (eau de javel) ou le formol (fréquemment utilisé sous forme de vapeurs pour la désinfection des couveuses et des éclosoirs) pour traiter les locaux, le matériel, les couveuses et l'on placera des pédiluves aux issues des bâtiments afin d'éviter la dissémination dans le reste de l'élevage.

Enfin, il conviendra d'interdire le transport et la vente sur les marchés des animaux et des oeufs à incuber provenant des élevages infectés.

7.1.2. - Milieu indemne

En milieu indemne, il faut avant tout éviter les achats sur les marchés. On n'introduira que des animaux et des oeufs issus d'élevages indemnes ou on fera subir aux nouveaux oiseaux une quarantaine en présence d'animaux témoins indemnes.

Enfin, l'installation de pédiluves, la désinfection des différents matériels de transport et, dans la mesure du possible, l'éloignement des oiseaux sauvages susceptibles de véhiculer le virus, devraient limiter les risques d'infection.

Hélas, l'application de ces seules mesures sanitaires se révèle difficile, voire impossible, pour des raisons de rentabilité et inefficace du fait de la subtilité de la contagion. On devra donc associer prophylaxie sanitaire et prophylaxie médicale.

7.2. - PROPHYLAXIE MEDICALE

7.2.1. - Intérêt

Comme nous l'avons montré plus haut, la prophylaxie sanitaire ne suffit pas, à elle seule, à protéger un troupeau contre la maladie. De plus, les animaux guéris possèdent une immunité solide grâce à des anticorps neutralisants qu'ils peuvent transmettre à leur descendance par l'intermédiaire du vitellus, les poussins étant alors protégés pendant 4 à 10 semaines.

Il est donc apparu intéressant et avantageux de pratiquer la vaccination des adultes et surtout des reproducteurs.

Deux types de vaccins sont disponibles :
- les vaccins à virus vivant
- les vaccins à virus inactivé.

7.2.2. - Vaccin à virus vivant

7.2.2.1. - Principe

Dans l'absolu, le vaccin vivant utilise un virus très contagieux, entérotrope, apathogène par absence de neurotropisme et très immunogène, facilement administrable dans les grands effectifs (la voie buccale étant la plus pratique).

Le virus reproduit alors une infection naturelle et provoque l'immunisation.

7.7.2.2. - Réalisation

Dès 1955, Schaaf et Lamoreux ont montré que la vaccination à l'aide d'un vaccin à virus vivant était possible. De nombreux travaux ultérieurs ont permis de mettre au point cette méthode de vaccination.
Les souches de virus utilisées (souche 1143, souche C2653 souche HA) sont conformes au principe énoncé plus haut.

a/ Vaccin préparé sur poussin d'un jour

Le virus est multiplé sur poussin d'un jour (inoculation intracérébrale). Le vaccin ainsi réalisé doit titrer 20.000 DL 50 par ml pour le poussin par voie intracérébrale.
Ce vaccin est administré par transfixion de la membrane alaire (Wing-web) à la dose de 200 DL 50 par animal.

b/ Vaccin préparé sur embryon de poulet

L'inoculation intravitelline a lieu au 4ème jour d'incubation.
Au 20ème jour, on prélève les embryons encore vivants et on prépare le vaccin qui doit titrer 100 ou 10.000 DMIE/ml selon que l'administration sera individuelle ou collective.

. Vaccination individuelle

Sur 1 à 4 p.100 des animaux, on injecte 100 DMIE dans le jabot. Ces animaux excrètent le virus dans les fécès et contaminent les autres.
En 4 semaines, le troupeau est protégé.

. Vaccination collective :

Par l'eau de boisson, à la dose de 20 DMIE par animal

7.2.2.3. - Précautions

a/ Avant la vaccination

Il convient de s'assurer tout d'abord que le virus ne risque pas de contaminer les animaux en ponte dans l'élevage lui-même mais aussi dans les élevages voisins.

Si des animaux non immuns (pondeuses, reproductrices en début de ponte, poussins d'un jour) risquent d'être contaminés, il est nécessaire de reporter la vaccination à une date plus favorable.

Les animaux à vacciner doivent être en parfaite santé, âgés de plus de 10 semaines. En pratique, on vaccine à l'âge de 12-16 semaines.

Enfin, il convient d'utiliser un vaccin parfaitement efficace, c'est-à-dire transporté et stocké dans les meilleures conditions possibles. Les abreuvoirs dans lesquels sera distribué le vaccin doivent être à l'abri de la lumière et propres. L'eau ne devra pas contenir de traces de chlore ou de désinfectant.
Gentry (1969) a montré qu'en additionnant de la poudre de lait écrémé à l'eau de boisson, on évitait l'inactivation du virus par les éventuelles traces de chlore.

b/ Pendant la vaccination

. Eviter un stress trop important dû à des manipulations intempestives.
. Bien désinfecter le matériel et les vête-

ments ayant été au contact du virus.

. En cas de vaccination individuelle de quelques animaux dans chaque bande, prendre toutes les mesures pour que la diffusion du virus soit la plus rapide possible.

c/ Après la vaccination

Le virus étant excrété pendant trois semaines dans les fécès et 4 semaines dans les oeufs, on devra donc isoler le troupeau pendant 4 semaines et le maintenir à l'abri des stress et autres infections.
On ne fera pas incuber les oeufs pendant 4 semaines et on n'introduira aucun animal nouveau pendant ce délai.

7.2.2.4. - Résultats

L'immunité obtenue par vaccination est plus forte que celle qui suit l'infection naturelle. Elle est transmise à la descendance de telle façon qu'au bout de 12 semaines les embryons sont pratiquement résistants à 100 %.

Cette immunité est suffisamment durable pour rendre inutiles les rappels (si la vaccination a été bien réussie).

Enfin, l'immunité transmise permet la protection des poussins pendant 4 à 8 semaines. Or, après 6 semaines, les animaux n'extériorisent plus la maladie. La vaccination des poulets de chair est donc inutile.

7.2.2.5. - Echecs

Les différents échecs constatés peuvent être dus au vaccin, à une mauvaise utilisation ou bien aux animaux eux-mêmes.

Le vaccin peut être inefficace si le virus utilisé pour sa fabrication était lui-même inactivé.

De plus, la conservation et le transport se faisant parfois dans de mauvaises conditions, on risque au bout de plusieurs semaines, de se trouver en possession d'un vaccin totalement inefficace.

Ensuite le virus peut être inactivé au moment de l'administration (traces de chlore, d'ammoniums quaternaires, rayons U.V.).

Enfin, si les animaux vaccinés sont déjà immuns, le virus est rapidement neutralisé et la vaccination est un échec.

7.2.3. - Vaccin à virus inactivé

7.2.3.1. - Principe

Schaaf (1959) mit au point le premier vaccin inactivé. Pour cela, il utilisa une souche neuropathogène, inactivée par la bêtapropiolactone, adjuvée par l'hydrate d'alumine, l'injection se faisant par voie intramusculaire.

7.2.3.2. - Réalisation

Mac Leod (1965) utilise la souche Van Roekel qu'il inocule par voie intravitelline à des embryons de 6 jours. La récolte a lieu au 15ème jour. Le virus doit alors donner 100 p. 100 d'amyotrophies à la dilution 10^{-6} sur des embryons sensibles. Il est ensuite inactivé par la bêtapropiolactone à 2 °/₀₀ puis adjuvé par l'hydrate d'alumine à 25 %.

Le contrôle de l'efficacité du vaccin est ensuite réalisé sur des poussins sensibles. 3 semaines après vaccination (10^5 DIE 50), 80 p.100 des sujets doivent résister à 100 DL 50 du virus souche Van Roekel.

7.2.3.3. - Précautions

a/ Avant la vaccination

Il convient de s'assurer que tous les animaux en âge d'être vaccinés (plus de 3 semaines) sont en bonne santé.

Le vaccin doit avoir été conservé dans de bonnes conditions. Le matériel doit être en bon état de fonctionnement.

b/ Pendant la vaccination

. Eviter les stress trop importants
. S'assurer que le matériel n'est pas souillé afin d'éviter les infections secondaires (rappelons que la vaccination se fait par voie intramusculaire).
. Vacciner tous les animaux de plus de 3 semaines.

c/ Après la vaccination

Pas de précautions particulières, si ce n'est une bonne hygiène générale.

7.2.3.4. - Résultats

L'immunité est bonne au bout de 3 à 4 semaines. Elle est plus forte que celle qui suit une infection naturelle. Elle a une durée minimale de 6 mois chez les adultes.

Chez les poussins, l'immunité transmise dure 2 à 4 semaines.

Signalons qu'on obtient une immunité plus durable lorsqu'on procède à un rappel un mois après la première injection. Cependant, pour les adultes, il convient de pratiquer un rappel annuel.

7.2.3.5. - Echecs

Les échecs peuvent être dus à une mauvaise vaccination (dose insuffisante), à une mauvaise qualité du vaccin ou à des facteurs individuels (perte d'immunité, animaux s'immunisant peu ou pas du tout).

Cependant, dans les différents cas rencontrés en France (Willemart 1969), la maladie ne présentait pas les mêmes caractères de gravité que l'infection naturelle sur des animaux totalement sensibles.

7.2.4. - Comparaison vaccin vivant - vaccin inactivé

Le tableau suivant montre que certains avantages du vaccin vivant représentent des inconvénients pour

le vaccin inactivé et inversement.

	VACCIN VIVANT	VACCIN INACTIVE
Avantages	Facilité d'emploi Economie de main d'oeuvre Immunité solide durable transmissible	Sécurité d'emploi Agit comme rappel si administré à des animaux ayant déjà été infectés Immunité solide relativement durable transmissible
Inconvénients	Dangereux car : . contagiosité élevée . risques d'exacerbation de la virulence et de contamination des élevages voisins (risque d'enzootie) . risque d'inactivation lors du stockage.	Cher car : . main d'oeuvre et manipulations nombreuses . vaccin adjuvé, donc de prix revient plus élevé . nécessité de vacciner TOUS les animaux

TABLEAU 3 : Comparaison vaccin vivant - vaccin inactivé

Le vaccin idéal réunissant tous les avantages énumérés ci-dessus n'étant pas encore découvert, la vaccination fera appel, selon les besoins aux vaccins vivants ou aux vaccins inactivés.

SECONDE PARTIE

A - ETUDE DE L'ACTION DU VIRUS DE L'E.M.I.A. SUR DES OISEAUX ADULTES

Faisan, Perdrix grise et Perdrix rouge

I - MATERIEL ET METHODES

1.1. - VIRUS UTILISE : PREPARATION ET TITRAGE DU STOCK DE VIRUS

La souche utilisée est la souche Van Roeckel VAE 9B, isolée de volaille, transmise par le laboratoire de recherches vétérinaires de PLOUFRAGAN, lyophylisée et titrant $10^{-5,31}$ DL50 (Dose létale pour 50 p.100 des embryons) par millilitre.

1.1.1. - Contrôle du pouvoir pathogène

Des poussins âgés de trois jours, exempts d'organismes pathogènes spécifiques (E.O.P.S.) et d'anticorps sont inoculés par voie intracérébrale avec 0,1ml d'une suspension de virus, ce qui correspond à 4 D.M.L. (dose minima létale).

Les premiers symptômes caractéristiques apparaissent sept jours plus tard (tremblements, ataxie), puis les animaux tombent en décubitus et la paralysie devient presque totale.

Le sacrifice permet de prélever le sérum et des organes destinés à des examens histopathologiques: ces examens ont confirmé la symptomatologie clinique en montrant les lésions classiques de l'E.M.I.A. sur l'encéphale (manchons périvasculaires), le pancréas (foyers de cellules mononucléées), le proventricule (infiltrations de cellules mononucléées, desquamation de l'épithelium).

Enfin, une autre partie des organes provenant des poussins sacrifiés est destinée à la constitution du stock de virus.

1.1.2. - Constitution d'un stock de virus

L'inoculation d'un broyat filtré d'organes à des oeufs embryonnés provenant d'un élevage conventionnel n'a donné aucun résultat, les animaux possédant sans doute des anticorps neutralisant le virus.

Il a donc fallu utiliser des oeufs ne possédant pas d'anticorps anti-EMIA (oeufs provenant de la station de pathologie aviaire INRA de NOUZILLY). Ces oeufs embryonnés de 6 jours sont inoculés par voie intra-vitelline.

Au 20ème jour, on prélève les embryons et, après avoir enlevé becs et pattes, on procède au broyage et à la centrifugation, le surnageant constituant alors le stock de virus.

Ce stock de virus est ensuite titré par inoculation de dilutions croissantes à l'oeuf embryonné. Au terme du 20ème jour, on procède à l'examen attentif

des embryons. On remarque des morts précoces, des anomalies de constitution des pattes, des amyotrophies, un nanisme parfois marqué.

Tableau 4 : Résultats du titrage

Dilution du virus (Volume inoculé = 0,1 ml)	10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}
Pourcentage d'embryons atteints	100	100	100	100	80	0

La DL50 (dose létale pour 50 pour cent des embryons) a pu ainsi être calculée par la méthode de Reed et Muench et correspond à $10^{6,3}$ DL50 par millilitre

1.2. - ANIMAUX UTILISES

Il fut utilisé au total 120 oiseaux adultes en bon état :

- 40 poules faisanes,
- 40 perdrix grises,
- 40 perdrix rouges.

1.3. - CONDITIONS EXPERIMENTALES

1.3.1. - Constitution des lots

4 lots comprenant chacun 10 animaux de chaque espèce sont constitués :

- Les deux premiers lots (A et B) sont inoculés par voie intramusculaire : chaque animal reçoit dans les muscles pectoraux en un seul point d'injection 0,5ml de suspension virale additionnée de 500 unités de pénicilline et 500 microgrammes de streptomycine, avec une dilution au 1/10° pour le lot A et au 1/5° pour le lot B. L'addition d'antibiotiques permet d'éviter la prolifération bactérienne due à l'origine intestinale d'une partie des matières virulentes.

- Les deux derniers lots (C et D) sont inoculés par voie oculonasale qui représente une des voies naturelles de contamination. Pour cela, on dépose 0,25 ml de la suspension dans les yeux et dans les narines au moment de l'inspiration. Le lot C reçoit une dilution au 1/4 et le lot D une dilution au 1/3. De plus, les lots C_2 et D_2 ont été immunodéprimés par injection de cortisone et de dexaméthasone :
faisans = 1 ml cortisone + 0,2 ml dexaméthasone
perdrix = 0,3 ml cortisone + 0,2 ml dexaméthasone.

1.3.2. - Entretien des animaux

Les lots A et B sont isolés dans des pièces différentes non communicantes et des cages séparées. Avant introduction des lots C et D, la désinfection des locaux et de tout le matériel est effectuée avec de l'eau de javel et de la soude.

Chaque jour, les animaux sont examinés afin de déceler l'apparition des premiers symptômes. Certains animaux n'ont jamais montré le moindre signe d'EMIA malgré des temps d'observation très longs.

1.3.3. - Examens effectués

Deux types d'examens ont été effectués :
- recherche de lésions microscopiques
- recherche et titrage du virus sur oeuf embryonné à partir des animaux inoculés.

II - RESULTATS

2.1. - INOCULATION PAR VOIE INTRAMUSCULAIRE

2.1.1. - Histologie

2.1.1.1. Lot A :

Les animaux du lot A n'ayant montré aucun symptôme d'EMIA après 30 jours d'observation n'ont pas fait l'objet d'examens histologiques.

2.1.1.2. - Lot B :

Parmi les animaux du lot B, seules les perdrix grises ont montré des signes cliniques d'EMIA :boiteries, ailes pendantes, ataxie locomotrice. A l'autopsie on ne relève aucune lésion macroscopique.

Des examens histopathologiques pratiqués sur des organes provenant de presque tous les animaux du lot B ont montré des lésions toutes de même type mais de répartition inégale.

a/ Types lésionnels

Encéphale : Infiltrats de cellules mononucléées, arrondis ou diffus, souvent en manchons périvasculaires. Dans le cervelet, infiltrats plus fréquents dans la substance blanche, à la limite de la zone des grands neurones pyramidaux. Neurones à cytoplasme hyperchromatique et noyau rétracté.

Nerf sciatique : Infiltrats de cellules mononucléées, fibres axonales souvent hyperchromatiques denses et plissées.

Proventricule : Infiltrats de cellules lymphoïdes dans la muqueuse et la musculeuse.

Foie : Nombreux foyers arrondis de cellules mononucléées.

Pancréas : Infiltrats de cellules lymphoïdes plages de cytolyse avec homogénéisation du cytoplasme et caryorhexis.

Rate : jamais de lésions.

b/ Répartition des lésions

Animaux	Cerveau	N. Sciatique	Proventr.	Foie	Pancréas
Cinq faisans	0	+	0	0	0
	0	0	0	+++	0
	0	0	0	+++	-
	0	+	0	+++	0
	+	-	++++	0	-
Dix perdrix grises	++++	+	0	0	-
	+++	-	0	0	++
	+++	+	0	++++	0
	++++	0		0	0
	++++	0		+++	0
	+++	+		0	0
	0	0		+++	0
	++++	+		0	-
	+++	+		++++	0
	0	+		0	0
Dix perdrix rouges	++++	0	++++	++++	0
	++++	0	-	+++	+++
	++++	-	++	++	0
	0	+++	++++	++++	-
	++	0	+++	+++	0
	0	0	+++	+++	+ dégénéres.
	+++	+++	++++	++++	0
	++++	++++	++++	+++	0
	++	0	+++	+++	0
	++	+	+	+++	++++

0 = absence de lésion : - = organes non examinés ;
+ = lésions discrètes ; ++ = lésions d'étendue moyenne ;
+++ = lésions importantes ; ++++ lésions très importantes

Tableau 5 : Répartition des lésions chez les oiseaux du lot B

2.1.2. - Virologie

2.1.2.1. - Lot A

D'après les résultats cliniques du lot B, les perdrix grises paraissent plus sensibles. C'est pourquoi seules 5 perdrix grises du lot A ont fait l'objet d'une étude virologique. Le broyat d'organes additionné de pénicilline et de streptomycine est inoculé à des oeufs embryonnés dépourvus d'anticorps anti-EMIA.

Après incubation, l'examen des embryons donne les résultats suivants :

Prélèvement sur perdrix grise (p.g.)	1 p.g.	1 p.g.	1 p.g.	1 p.g.	1 p.g.
Nombre d'embryons anormaux	5/5	3/4 1 mort précoce	2/5 3 Morts précoces	5/5	5/5

Tableau 6 : Examen des embryons inoculés à partir de perdrix grises du lot A.

Les morts précoces sont dues à des proliférations bactériennes non inhibées malgré l'addition d'antibiotiques.

Les perdrix grises du lot A avaient donc bien multiplié le virus, mais n'avaient pas extériorisé la maladie.

2.1.2.2. - Lot B

L'étude virologique du lot B a été réalisée à partir d'organes (cerveaux, pancréas, nerfs sciatiques, proventricules) provenant de 6 faisans, 10 perdrix rouges et 2 perdrix grises.

Les embryons inoculés à partir de broyats d'organes de faisans n'ont montré aucune lésion.

Les embryons inoculés à partir de broyats d'organes de perdrix grises ont tous montré des lésions d'EMIA.

Pour ce qui est des embryons inoculés à partir de broyats d'organes de perdrix rouges, les résultats ont été très variables :

Nombre de perdrix rouges (p.r.) à l'origine de prélèvement	2p.r.	2 p.r.	2 p.r.	2 p.r.
Nombre d'embryons anormaux	5/5	3/5	1/5	Aucune lésion

Tableau 7 : Examen des embryons inoculés à partir de perdrix rouges du lot B.

2.1.2. - Remarques

Il faut rappeler que, selon BRION, GUILLON et WILLEMART, le diagnostic d'EMIA ne "peut s'établir avec certitude que si l'on rencontre sur le même sujet ou

des sujets différents d'un même lot, à la fois des lésions de dégénérescence neuronale particulière ou des lésions inflammatoires (parfois les deux) et des lésions d'infiltration lymphoïde dans la musculeuse du tube digestif (proventricule notamment) ou des nodules lymphocytaires dans le pancréas".

Remarquons la discordance entre les signes cliniques et les résultats des examens histologiques et virologiques :

	Symptômes	Signes	
		virologiques	histologiques
Faisans	0	0	+
Perdrix grises	+	++	++
Perdrix rouges	0	+	+++

0 = absence + = présence ++ = présence en abondance
+++ = présence en grande abondance

Tableau 8 : Résultats de l'étude des lots A et B

On peut donc penser que le temps d'observation des faisans et des perdrix rouges n'a pas été assez long.

Enfin, la présence de lésions histologiques chez les trois espèces inoculées est la preuve de leur réceptivité au virus. Mais la sensibilité paraît variable :

. Faisan : sensibilité faible
. Perdrix grise : sensibilité grande
. Perdrix rouge : sensibilité intermédiaire.

2.2. - INOCULATION PAR VOIE OCULO-NASALE

Les lots C et D, constitués chacun de 10 animaux de chaque espèce, ont été observés pendant un mois après inoculation par voie oculo-nasale. Aucun de ces animaux, immunodéprimés ou non, n'a présenté de signe clinique d'EMIA. Ils ont alors été sacrifiés et autopsiés puis ont fait l'objet de prélèvements identiques à ceux effectués sur les lots A et B.

2.2.1. - Histologie

L'examen microscopique sur le foie, le pancréas, le proventricule et le système nerveux central a révélé des lésions identiques à celles rencontrées chez les animaux des lots A et B.

. Chez la perdrix grise, aucune lésion n'a pu être mise en évidence à l'exception d'une surcharge lipidique du foie chez deux animaux immunodéprimés, l'un appartenant au lot C_2, l'autre au lot D_2. C'est pourquoi le tableau représentant la répartition des lésions ne fera pas mention des résultats chez la perdrix grise.

. Enfin, signalons qu'aucune lésion n'a pu être mise en évidence au niveau de l'encéphale des faisans et des perdrix rouges.

Afin de simplifier la lecture du tableau, nous ne ferons que mentionner l'absence de lésions de l'encéphale.

Tableau 9 : Répartition des lésions chez les Faisans et Perdrix rouges des lots C et D.

		Foie		Pancréas		Proventricule		Encéphale
		F.	P.R.	F.	P.R.	F.	P.R.	
non immuno-déprimés	Lot C_1	++	++++	0	++	0	+++	Absence de lésions chez tous les animaux
	0,25 ml	0	++	0	++	0	0	
	dilution au 1/3	+		+		±		
	Lot D_1	0	++	0	0	0	0	
	0,25 ml	0	++++	0	0	0	0	
	dilution au 1/4	0		0		0		
immunodéprimés	Lot C_2	+++	0	+	0	0	0	
	Lot C_2	++	++++	0	++	0	0	
	0,25 ml	+	+++	+	+	++	++	
		++++	++++	+	+	++	++	
	dilution au 1/3	++++		+		0		
		++++		++		0		
	Lot D_2	0	++++	0	+	0	+	
		0	++++	0	0	0	+	
	0,25 ml	++++	+	0	++	0	0	
		++	+++	0	+	0	0	
	dilution au 1/4	+++		0		0		

0 = absence de lésions + = lésions discrètes

± = lésions très discrètes ++ = lésions d'étendue moyenne

+++ = lésions importantes ++++ = lésions très importantes

2.2.2. - Virologie

Comme pour les lots A et B, les inoculums ont été préparés à partir de broyats d'organes (cerveau, pancréas, nerfs sciatiques et proventricule) auxquels sont ajoutés des antibiotiques (Pénicilline + Streptomycine). La présence du virus est contrôlée par inoculation à des oeufs embryonnés dépourvus d'anticorps anti-EMIA.

Les résultats apparaissent dans le tableau 10

Espèce / Lot	Faisans	Perdrix grises	Perdrix rouges
C_1	/	10	/
D_1	50	/	70
C_2	60	75	50
D_2	60	100	50

En Pour cent d'embryons de poule lésés
/ = non testé

Tableau 10 : Résultats de l'étude virologique des lots C et D.

L'immunodépression a donc permis un grand développement du virus.

2.2.3. - Remarques

Là encore, il faut noter la discordance entre les signes cliniques et les résultats des examens histologiques et virologiques. Aucun animal n'a présenté de symptômes d'EMIA alors que nombre d'entre eux sont porteurs de virus et de lésions.

	Symptômes	Histologie	Virologie
Faisans	0	++	+
Perdrix grises	0	0	++
Perdrix rouges	0	++	+
0 = absence + = présence ++ = présence en abondance			

Tableau 11 : Résultats de l'étude des lots C et D

Il se peut, là aussi, que le temps d'observation ait été trop court.

De plus, si les lésions sont de même type que celles rencontrées dans les lots A et B, elles sont moins intenses et moins étendues. Seul le foie est régulièrement atteint, alors que les autres organes ne portent que peu de lésions, même chez les oiseaux immunodéprimés.

Notons que l'immunodépression, si elle autorise un plus grand développement du virus et des lésions, n'a pas permis d'atteindre les résultats obtenus avec les lots A et B.

La voie intramusculaire est donc une voie d'inoculation plus sévère que la voie oculonasale, ce qui peut expliquer les différences notées plus haut.

Enfin, lors d'inoculation par voie oculonasale, les trois espèces montrent une sensibilité variable au virus de l'EMIA, la perdrix rouge montrant de nombreuses lésions alors que le faisan en présente moins et la perdrix grise pas du tout.

III - CONCLUSION

3.1. - Les Faisans, Perdrix grises et Perdrix rouges adultes sont réceptifs au virus de l'EMIA, que l'inoculation se fasse par voie intramusculaire ou oculonasale.

3.2. - Le délai nécessaire à l'apparition des premiers symptômes est long (un mois ou plus) et d'autant plus long que la voie d'inoculation est moins sévère.

3.2. - La sensibilité des trois espèces au virus de l'EMIA est variable tant du point de vue symptomatologique que du point de vue lésionnel et virologique ainsi que le montre le tableau 12

Signes / Espèces / Voie	Cliniques		Histologiques		Virologiques	
	I.M.	O.N.	I.M.	O.N.	I.M.	O.N.
Faisan	O	O	+	++	O	+
Perdrix grise	+	O	++	O	++	++
Perdrix rouge	O	O	+++	++	+	+

O = absence + = présence ++ = présence en abondance
IM = Intramusculaire O.N. = Oculonasale +++ = présence en grande abondance

Tableau 12 : Synthèse des résultats obtenus chez les oiseaux adultes.

A l'exception de l'absence de signes histologiques lors de l'administration oculonasale des Perdrix grises, qui représente un fait expérimental contradictoire, l'ensemble des autres résultats, obtenus chez les adultes, sont en bonne concordance pour affirmer que :
La Perdrix grise est l'espèce la plus sensible au virus l'EMIA
Le faisan est l'espèce la moins sensible au virus de l'EMIA.
La Perdrix rouge présente une sensibilité intermédiaire.

B - ETUDE DE L'ACTION DU VIRUS DE L'E.M.I.A. SUR LES OEUFS EMBRYONNES DE FAISAN, DE PERDRIX GRISE ET DE PERDRIX ROUGE

I - MATERIEL ET METHODES

1.1. - VIRUS UTILISE

La souche utilisée est la même que celle qui a permis l'expérimentation précédemment décrite. Rappelons toutefois qu'il s'agit de la souche Van Roeckel VAE 9 B isolée de volailles, transmise par le Laboratoire de Recherches Vétérinaires de PLOUFRAGAN (Côtes du Nord), lyophilisée et titrant $10^{-5,31}$ DL50 par millilitre.

1.1.1. - Contrôle du pouvoir pathogène

Le pouvoir pathogène, déjà contrôlé lors de l'expérimentation précédente, a été vérifié sur oeuf embryonné de poule à l'occasion de la constitution du stock de virus.

1.1.2. - Constitution du stock de virus

Comme précédemment, nous avons utilisé des oeufs embryonnés dépourvus d'anticorps anti-EMIA et provenant de la station de pathologie aviaire INRA de NOUZILLY.

Après 6 jours d'incubation, ces oeufs sont mirés (20 pour cent d'oeufs clairs) et inoculés par voie intravitelline.

Au 20ème jour, les embryons présentant des lésions caractéristiques d'EMIA (nanisme, anomalies des pattes...) sont prélevés et broyés après ablation des becs et des pattes. Le broyat, repris dans 100 ml de HANKS, additionné d'antibiotiques (pénicilline 300.000 UI, streptomycine 300 mg) est filtré sur gaze stérile. Le filtrat ainsi obtenu constitue le stock de virus que nous utiliserons, après titrage, pour la suite de l'expérimentation.

1.1.3. - Titrage sur oeufs de poules EOPS

Des dilutions croissantes du stock de virus sont inoculées par voie intravitelline (0,2 ml) à seulement 26 oeufs EOPS, 46 pour 100 des oeufs reçus étant clairs.

1.1.3.1. - Etude qualitative

Après 20 jours d'incubation, les oeufs sont ouverts et les embryons examinés avec minutie.

Tous présentent une ou plusieurs lésions caractéristiques d'EMIA : anomalie de constitution des pattes, prognatisme, amyotrophies, nanisme...

On a également remarqué des lésions congestivo-hémorragiques de la membrane chorio-allantoïque et parfois un vitellus peu résorbé et d'aspect desséché.

Le manque d'oeufs embryonnés nous a empêchés d'étudier les dilutions faibles (10^{-1}, 10^{-2}), et fortes (10^{-8},10^{-9}). C'est pourquoi nous n'avons pu obtenir qu'une approximation de la DL_{50}. Celle-ci semble très faible : au moins $17^{7} DL_{50}$ par millilitre.

Tableau 13 - Résultats du titrage du stock de virus sur des oeufs embryonnés de poule

Dilution du stock de virus	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}	10^{-7}	Témoin eau physiologique
Embryons atteints de lésions caractéristiques de l'EMIA (p.100)	100	100	100	100	100	0

I.1.3.2. - Etude quantitative

Afin d'apprécier plus objectivement le nanisme, nous avons pesé les embryons lésés (avec et sans vitellus) Les résultats obtenus (cf. tableau 13) permettent la comparaison entre le poids d'un embryon normal (témoin eau physiologique) et les embryons isolés.

Dilution du stock	Poids moyen (en g.) avec vitellus	Poids moyen (en g.) sans vitellus
10^{-4}	23	15
10^{-5}	28,5	17,5
10^{-6}	25	18
10^{-7}	28,5	18,5
Moyenne	26,25	17,25
Témoin eau physiologique	43	29

Tableau 14 - Résultats de l'étude quantitative chez l'embryon de Poule EOPS.

1.2. - OEUFS UTILISES

Les oeufs de gibier utilisés provenaient du Centre Expérimental de St BENOIST, au PERRAY en YVELINES. Après élimination des oeufs clairs, nous avons pu utiliser 45 oeufs embryonnés de chaque espèce.

1.3. - CONDITIONS EXPERIMENTALES

1.3.1. - Protocole

Nous résumerons schématiquement le protocole utilisé chez les trois espèces de gibier, calqué sur celui utilisé pour le titrage du stock de virus.

. J = Mise en couveuse de tous les oeufs d'une espèce (atmosphère humide 37,8°C)

. J + 8 (faisan)
. J + 9 (perdrix) } = Mirage, élimination des oeufs clairs, inoculation intravitelline : 0,2 ml de dilutions croissantes.

Dilutions	Pur	10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}	10^{-7}	Témoin eau physio.
Nombre d'oeufs	5	5	5	5	5	5	5	5	5

Tableau 15 : Schéma d'inoculation aux oeufs de gibier

. J + 12 = Mirage, marquage des morts précoces

. J + 22 = Mirage
Ouverture

Enfin, signalons que chaque jour, sauf les trois jours suivant l'inoculation, les oeufs sont retournés.

1.3.2. - Examens effectués

Après ouverture, comme lors du titrage du stock de virus sur oeufs embryonnés EOPS, on procède à une étude qualitative (recherche de lésions sur l'embryon et ses enveloppes) et à une étude quantitative (pesée des embryons afin de rechercher le nanisme).

1.3.3. - Contrôle de la présence du virus dans les embryons lésés

Afin de vérifier la présence du virus dans les embryons lésés, ceux-ci sont broyés et inoculés, à différentes dilutions, à des oeufs de poule dépourvus d'anticorps anti-EMIA. Si le virus est bien présent, les embryons de poule montreront des lésions caractéristiques d'EMIA.

II - RESULTATS

2.1. - OEUFS EMBRYONNES DE FAISAN

Sur les 75 oeufs reçus du Centre Expérimental de St Benoist, 20 étaient clairs. 45 oeufs ont été utilisés pour l'expérimentation et les 10 derniers, non inoculés, ont été incubés jusqu'à éclosion, comme témoins.

2.1.1. - Examen qualitatif

Sur les 45 embryons inoculés, abstraction faite des morts précoces vraisemblablement dues à des con-

taminations bactériennes, seuls 4 poussins présentaient des lésions :

- 1 embryon, inoculé avec le stock pur, est mort, en présentant un nanisme net et des anomalies caractéristiques des pattes.
- 1 embryon, inoculé avec la dilution 10^{-4}, est vivant avec la cavité abdominale non fermée.
- 1 embryon, inoculé avec la dilution 10^{-6} est mort avec la cavité abdominale et la boîte crânienne non fermées.
- 1 embryon, inoculé avec la dilution 10^{-7}, est vivant, mais semble peu développé et son vitellus est très étendu.

De ces quatre embryons, seul le premier, inoculé avec le stock pur, peut être considéré comme présentant des lésions caractéristiques.

Le tableau 16 montre les résultats de cette étude qualitative:

Dilution du stock de virus	Pur	10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}	10^{-7}	Témoin eau Physiolog.
Nombre d'oeufs inoculés	5	5	5	5	5	5	5	5	5
Nombre de morts précoces	1	1	2	2	1	3	0	2	1
Nombre de lésions caractéristiques.	1	0	0	0	0	0	0	0	0

Tableau 16 : Résultats de l'étude qualitative chez l'embryon de faisan

2.1.2. - Examen quantitatif

La pesée des embryons (cf. tableau 17) n'a montré aucun nanisme, comme le laissait prévoir l'examen qualitatif.

Le poids des embryons inoculés est pratiquement identique à celui des témoins eau physiologique et des témoins non inoculés.

On peut donc conclure que l'embryon de faisan est très résistant au virus de l'EMIA.

Tous les embryons inoculés sont prélevés stérilement et conservés par congélation afin de vérifier ultérieurement la présence du virus par inoculation à l'oeuf embryonné de poule (cf. § 2.4.).

Dilution du stock de virus	Nombre d'embryons pesés	Poids moyen sans vitellus (en grammes)
Pur	4	12,66
10^{-1}	4	13,25
10^{-2}	3	15,33
10^{-3}	3	14,66
10^{-4}	4	14,00
10^{-5}	2	13,50
10^{-6}	5	12,00
10^{-7}	3	13,66
Moyenne.....		13,63
Témoins eau phys.	4	14,25
Témoins non inoc.	5	13,80

Tableau 17 : Résultats de l'étude quantitative chez l'embryon de faisan.

2.2. - OEUFS EMBRYONNES DE PERDRIX GRISE

Sur les 65 oeufs de perdrix grise reçus du Centre Expérimental de St Benoist, 7 étaient clairs et 1 cassé.

45 oeufs ont été utilisés pour l'expérimentation, les 12 oeufs supplémentaires non inoculés, ont été incubés jusqu'à éclosion, comme témoins.

2.2.1. - Examen qualitatif

On distingue lors de l'ouverture des oeufs, deux groupes d'embryons :

- un groupe d'embryons morts précocément avec putréfaction de l'oeuf sans doute due à des contaminations bactériennes.
- un groupe d'embryons morts tardivement et présentant des lésions caractéristiques d'EMIA analogues à celles rencontrées chez l'embryon de poule. De plus, on note la présence d'un résidu d'albumen à aspect résineux. Cependant nous ne remarquons pas de nanisme apparent.

Le tableau 18 montre les résultats de l'étude qualitative.

Dilution du stock de virus	Nombre d'oeufs inoculés	Nombre de morts précoces (putréf.)	Nombre de morts tardives (lésions caractéristiques
Pur	5	5	0
10^{-1}	5	2	3
10^{-2}	5	4	1
10^{-3}	5	3	2
10^{-4}	5	0	5
10^{-5}	5	2	3
10^{-6}	5	2	3
10^{-7}	5	4	1
Témoins eau physiolog.	5	3	0

Tableau 18 : Résultats de l'étude qualitative chez l'embryon de Perdrix grise.

2.2.2. - Examen quantitatif

La pesée (cf. tableau 19) confirme ce que laissait subjectivement apparaître l'examen précédent : aucun embryon n'a montré de poids inférieur, de façon significative à la moyenne.

Le nanisme est donc la seule lésion macroscopique absente chez l'embryon de perdrix grise qui semble cependant très sensible au virus de l'EMIA (lésions jusqu'à 10^{-7}).

Les embryons lésés sont prélevés stérilement et conservés par congélation afin de vérifier ultérieurement la présence du virus par inoculation à l'oeuf embryonné de poule,(cf. § 2.4.)

Dilution du stock de virus	Nombre d'embryons pesés	Poids moyen (en g.) avec vitellus	Poids moyen (en g.) sans vitellus
10^{-1}	3	6,8	4,7
10^{-2}	1	7,0	4,5
10^{-3}	2	7,0	5,1
10^{-4}	5	6,8	4,9
10^{-5}	3	7,1	5,1
10^{-6}	2	6,7	5,0
Moyenne.....		6,9	4,9
Témoins eau physiologique	2	6,7	4,7

Tableau 19 : Résultats de l'étude quantitative chez l'embryon de Perdrix grise

2.3. - OEUFS EMBRYONNES DE PERDRIX ROUGE

Sur les 70 oeufs de perdrix rouge reçus du Centre Expérimental de St Benoist, 19 étaient clairs.

45 oeufs ont été utilisés pour l'expérimentation, les 6 oeufs supplémentaires, non inoculés, ont été incubés jusqu'à éclosion comme témoins.

2.3.1. - Examen qualitatif

On distingue, lors de l'ouverture des oeufs, trois groupes d'embryons :

. un groupe d'embryons morts précocément, avec putréfaction de l'oeuf sans doute due à des contaminations bactériennes.

. un second groupe d'embryons morts eux aussi précocément, mais sans putréfaction et d'aspect anormal : l'embryon est sec, momifié, le corps paraît atrophié alors que la tête semble normalement développée. Ce groupe correspond aux oeufs inoculés avec le stock virus pur ou peu dilué (10^{-1}).

. enfin le troisième groupe montre des embryons bien développés, morts tardivement en présentant des lésions caractéristiques d'EMIA analogues à celles rencontrées chez l'embryon de poule et de perdrix grise :
  - lésions congestivo-hémorragiques de la membrane chorio-allantoïdienne,
  - vitellus incomplètement résorbé,
  - nanisme appréciable à l'oeil nu,
  - lésions des pattes (tordues, retournées)
  - cou tordu, déplumé, amyotrophique.

Le tableau 20 montre les résultats de cette étude quantitative :

Dilution du stock de virus	Nombre d'oeufs inoculés	Nb de morts précoces		Nb de lésions caractéristiques (morts tardives)
		putréfaction	momification	
Pur	5	0	5	0
10^{-1}	5	0	3	2
10^{-2}	5	1	0	4
10^{-3}	5	0	0	5
10^{-4}	5	1	0	4
10^{-4}	5	1	0	4
10^{-6}	5	0	0	5
10^{-7}	5	2	0	3
Témoins eau physiologique	5	0	0	0

Tableau 20 : Résultats de l'étude qualitative chez l'embryon de Perdrix rouge.

2.3.2. - Examen quantitatif

La pesée (cf. tableau 21) confirme ce que l'examen des embryons laissait subjectivement apparaître. L'embryon de perdrix rouge est très sensible au virus de l'EMIA puisque même à la dilution de 10^{-7} on rencontre des lésions caractéristiques. D'autre part, à dose très forte (10^{-1}, pur), l'action du virus est beaucoup plus rapide et provoque la mort de l'embryon à un stade plus précoce de son développement.

Les embryons lésés sont prélevés stérilement et conservés par congélation afin de vérifier ultérieurement la présence du virus par inoculation à l'oeuf embryonné de poule (cf § 2.4.).

Dilution du stock de virus	Nb.d'embryons pesés	Poids moyen (en g.) avec vitellus	Poids moyen (en g.) sans vitellus
Pur	5	-	1,65
10^{-1}	5	7,00	4,37
10^{-2}	4	10,60	6,81
10^{-3}	5	10,40	6,30
10^{-4}	4	10,80	7,00
10^{-5}	4	9,50	5,88
10^{-6}	5	12,20	7,20
10^{-7}	3	9,50	7,20
Moyenne..... (10^{-2} à 10^{-7})	.....	10,51	6,73
Témoins eau physiolog.	5	13,30	9,80

Tableau 21 : Résultats de l'étude quantitative chez l'embryon de Perdrix Rouge

2.4. - CONTROLE DE LA PRESENCE DU VIRUS DANS LES EMBRYONS LESES

2.4.1. - Principe

Trois stocks de virus sont préparés par broyage des embryons de gibier conservés par congélation. Différentes dilutions (pur, 10^{-1}, 10^{-2}, 10^{-3}) de ces stocks sont alors inoculées à des oeufs embryonnés de poules E.O.P.S. afin de rechercher la présence du virus et d'effectuer un titrage sommaire de ces trois stocks de virus qui sont ensuite recongelés.

2.4.2. - Résultats

Seul l'examen des embryons, afin de rechercher les lésions, sera envisagé puisqu'il nous suffit de vérifier la présence du virus.

Abstraction faite des morts précoces dues à une contamination bactérienne, on trouve chez tous les autres embryons inoculés des lésions caractéristiques d'EMIA.

Ce fait confirme la sensibilité des embryons de perdrix grise et rouge et montre la résistance de l'embryon de faisan qui, bien que multipliant le virus, ne présentait pas de lésions.

Enfin, on doit évoquer la possibilité d'une contamination dans la couveuse. En effet un embryon témoin eau physiologique montrait des lésions des pattes identiques à celles rencontrées lors de l'action du virus de l'EMIA. Nous pensons qu'il y a eu contamination à la faveur d'un trou d'inoculation mal rebouché à la paraffine.

Le tableau 22 rend compte des résultats de cette étude.

	Dilution	Nb. d'oeufs inoculés	Nb. de morts précoces (putréfaction)	Nb. de morts tardives (lésions caractéristiques
Faisan	Pur	5	2	3
	10^{-1}	5	1	4
	10^{-2}	5	2	3
	10^{-3}	5	2	3
Perdrix Grise	Pur	5	1	4
	10^{-1}	5	1	4
	10^{-2}	5	1	4
	10^{-3}	5	1	4
Perdrix Rouge	Pur	5	0	5
	10^{-1}	5	3	2
	10^{-2}	5	1	4
	10^{-3}	5	0	5
Témoins eau physiologique		5	3	1

Tableau 22 : Contrôle de la présence du virus dans les embryons lésés

III - CONCLUSION

Cette étude du pouvoir pathogène du virus de l'EMIA sur les embryons du Faisan, Perdrix grise, et Perdrix rouge, permet la conclusion suivante :

3.1. - Les embryons des trois espèces considérées sont réceptifs au virus de l'EMIA.

3.2. - Seuls les embryons de Perdrix Grise et de Perdrix Rouge sont sensibles à l'action du virus.

3.3. - Chez les deux espèces sensibles, le délai nécessaire au virus pour provoquer la mort de l'embryon est assez long (environ 10 jours). Cependant, ce délai peut être considérablement réduit chez la perdrix rouge par inoculation de très fortes doses.

CONCLUSIONS GENERALES

1 - La première conclusion qui ressort de ces études est que les trois espèces de gibier considérées sont réceptives au virus de l'E.M.I.A.

2 - Par contre, comme le montre le tableau suivant, la sensibilité est variable d'une espèce à l'autre.

	ADULTES		Embryons
	Symptomatologie	Atteinte lésionnelle	
Faisan	non sensibles	moyenne	peu sensibles
Perdrix Grise	sensibles	importante	très sensibles
Perdrix Rouge	non sensibles	importante	très sensibles

Tableau 23 : Variations de la sensibilité chez les 3 espèces

3 - Ces résultats sont à rapprocher des résultats obtenus précédemment au Service de Microbiologie-Immunologie - Pathologie Générale de l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE et concernant l'action d'autre virus pathogènes pour la Poule.

Les trois espèces de gibier considérées sont peu sensibles au virus de la variole aviaire et plus sensibles au virus de la maladie de Newcastle (surtout

les Perdrix grises).

4 - Ces résultats nous amènent donc à poser le problème d'une éventuelle vaccination dans les centres de reproduction de gibiers, lorsque se développe une épidémie d'E.M.I.A. dans les élevages de volailles avoisinants. Pour nous, cette vaccination ne se justifierait que pour les Perdrix grises qui sont les plus sensibles au virus de l'E.M.I.A. et peut-être aussi pour les Perdrix rouges. Les Faisans, quant à eux, risquent peu de souffrir de l'action du virus.

VU : Le Directeur de l'Ecole Vétérinaire
Professeur rapporteur

Professeur R. [illegible]

VU : Le Président de la thèse

Professeur ARMENGAUD

VU et PERMIS D'IMPRIMER
Toulouse, le 31 Mars 1981
P/LE PRESIDENT DE L'UNIVERSITE PAUL SABATIER
par délégation,
LE VICE-PRESIDENT,

Professeur L. LARENG

BIBLIOGRAPHIE

(1) ASDRUBALI (G.), GIALETTI (L.), MUGHETTI (L.) et FIORONI (A.).- Contributo allo studio della encefalomielite aviare : Immunofluorescenza, istopathologia, microscopia elettronica. Nuova Vet., 1972, 360-374.

(2) BADSTUE (P.B.)- Avian encephalomyelitis : a review with special reference to control. Nord Vet. Med., 1963, 15, 799-809.

(3) BODIN (G.), PELLERIN (J.L.), MILON (A.), GERAL (M.F.) BERTHELOT (X.) et LAUTIE (R.)- Etude de la contamination expérimentale du gibier à plumes (Faisan, Perdrix grise, Perdrix rouge) par le virus de l'Encéphalomyélite Infectieuse Aviaire. Rev. Méd.Vet., (à paraître).

(4) BRION (A.), GUILLON (J.C.) et WILLEMART (J.P.)-L'encéphalomyélite infectieuse aviaire. in : Maladies animales à virus. L'Expansion Scientifique Française Ed., Paris 1972.

(5) BULOW (V. von)- Aviäre encephalomyelitis :Züchtung Titierung und Lagerrung des A.E.Virus für Lebensimpstoffe.Zentbl.Vet. Med., 1965, 12B, 298-311.

(6) BURKE (C.N.), KRAUSS (H.), et LUGINBUHL (F.E.)-The multiplication of avian encephalomyelitis virus in chicken embryo tissue. Avian Dis., 1965, 9, 104-108.

(7) BURTSCHER (H.)- Zur aviären encephalomyelitis. Dt. tierarztl.Wschr., 1961, 68,207-211.

(8) BUTTERFIELD (W.L.), LUGINBUHL (R.E.) et HELMBOLT (C.F.) - Characterisation of avian encephalomyelitis virus (an enterovirus). Avian Dis., 1969, 13, 363-378.

(9) CALNEK (B.W.), TAYLOR (P.J.) et SEVOIAN (M.)-Studies on avian encephalomyelitis : Epizootiology. Avian Dis., 1960, 4, 325-347.

(10) CALNEK (B.W.), TAYLOR (P.J.) et SEVOIAN (M.)-Studies of avian encephalomyelitis : Development and application of oral vaccine. Avian Dis., 1961, 5, 297-312.

(11) CHEVILLE (N.F.) et coll.- Myopathy associated with avian encephalomyelitis virus. Am.J. vet.Res.,1971, 32, 6, 979-984.

(12) ENCHEV (S.), SHISHKOV (N.), VESLINOV (A.) et STOIKOV (D.)- Comparative studies of -nfectious encephalomyelitis and atypical encephalomyelitis in fowls. Vet. Sci., 1976, 7, 67-75.

(13) FEIBEL (F.), HELMBOLT (C.F.), JUNGHERR (E.L.) et CARSON (J.R.) - Avian encephalomyelitis : prevalence, pathogenicity of the virus and breed susceptibility Am. J. Vet. Res., 1952, 13, 260-266.

(14) GAYOT (G.), LAVILLAUREIX (J.), GRUNER (J.E.) et BRIN (A.) - Etude clinique, virologique et histopathologique d'une enzootie d'uvéoencéphalite aviaire ayant sévi en Alsace en 1960. Annls. Inst. Pasteur, Paris, 1962, 103, 262-275.

(15) GENTRY (R.)- Poor control of avian encephalomyelitis linked to storage time of vaccine. Poult. Ind., 1969, avril, 262-275 .

(16) GERAL (M.F.), LAUTIE (R.) et BODIN (G.)- Etude de la contamination expérimentale du gibier à plumes (Faisans, Perdrix grises, Perdrix rouges) par le virus de la maladie de Newcastle. Rev. Méd.Vét., 1976, 127, II, 1537-1574.

(17) GIRGIN (H.)- The first recorded cases of avian encephalomyelitis in Turkey and the studies of ocular lesions. J. Vet. Bact. Inst. Etlik Ankara, 1971, 3, II-12, I-26.

(18) HOEKSTRA (J.) - Experiments with avian encephalomyelitis. Br. vet. J., 1964, 120, 322-335.

(19) HUNTON (P.) - A note on the incidence of infectious avian encephalomelitis in a pedigree chick population. Vet. Rec., 1963, 77, 592-593 .

(20) HWANG (J.), LUGINBUHL (R.E.) et JUNGHERR (E.L.) - Synthesis, cytopathogenicity and modification of avian encephalomyelitis virus in chick kidney cell culture. Proc. Soc. exp. Biol. Med., 1959, 102, 429 431.

(21) IDE (P.R.) - Application of the immunofluorescent antibody technique to the diagnosis of avian encephalomyelitis. Can.J. comp. Med., 1974, 38, 49-55.

(22) KAISER (S) - Untersuchungen über die Verbreitung der Aviären Encephalomyelitis in Hessen mit Hilfe eines Burteitestes. Thèse vét., Giessen, 1963 .

(23) KLIGER (I.J.) et OLITSKY (P.K.) - Experiments on cultivation of virus of avian encephalomyelitis Proc. Soc. exp. Biol. Med., 1940, 43, 680 .

(24) KODAMA (H.), SATO (G.) et MIURA (S.) - Avian encephalomyelitis virus in chicken pancreatic cell culture. Avian Dis., 1975, 19, 3, 556-565 .

(25) MAC LEOD (A.J.) - Vaccination against A.E. with a B.P.L. inactived vaccine. Vet. Rec., 1965, 77, 335 338.

(26) MANCINI (L.O.) et YATES (J.V.) - Cultivation of avian encephalomyelitis virus in vitro : I- In chick embryo neurological cell culture. Avian Dis, 1967, II, 672 - 679.

(27) MANCINI (L.O.) et YATES (J.V.) - Cultivation of avian encephalomyelitis virus in vitro : 2- In chick embryo fibroblastic cell culture. Avian Dis., 1968, 12, 278-284.

(28) MEIGNIER (B.), LAUTIE (R.), GERAL (M.F.) et BODIN (G.)- Etude de la contamination expérimentale du gibier à plumes (faisans, perdrix grises, perdrix rouges) par le virus de la variole aviaire. Rev. Méd. Vét., 1977, 128, I, 83-94 .

(29) MIYAMAE (T.)- Distribution and persistence of avian encephalomyelitis viral antigens in internal organs of naturally infected chickens. Am. J. vet., 1977, 128, I, 83-94.

(30) MIYAMAE (T.) - Immunofluorescent study on egg-adapted avian encephalomyelitis virus infection in chickens. Am. J. vet. Res. , 1977, 38, 12, 2009-2012.

(31) PHILIPSON (O.)- Zum verkommen von Lymphofollikeln in Drüsen und Muskelmagen bei Aviären Encephalomyelitis. Thèse vét., Vienne, 1962.

(32) RIGGENBACH (Chr.) - Encéphalomyélite aviaire chez des pondeuses de consommation. Schweizer Arch., 1962, III, 92-95.

(33) ROHRER (H.) - Traité des maladies à virus des animaux, Paris, Vigot Ed., 1969, T4, 3, 349-377 .

(34) SCHAAF (K.) et LAMOREUX (W.F.)- Control of avian encephalomyelitis by vaccination. Am.J. vet. Res., 1955, 16, 627-633 .

(35) SCHAAF (F.)-Avian encephalomyelitis immunization with inactived virus. Avian Dis., 1959, 3, 245-256.

(36) STEENIS (G.van)- Survey of various avian species for neutralizing antibody and susceptibility to avian encephalomyelitis virus. Res. vet. Sci., 1971, 12, 308-311.

(37) SUDARIE (F.), MATUKA (O.) et FORSEK (Z.) - Pathomorphological and pathohistological changes in spontaneous and experimental avian encephalomyelitis in chicken. Vet. Glasn., 1971, 25, 10, 741-746.

(38) WESTBURY (H.A.) et SINKOVIC (B.) - The pathogenesis of infectious avian, encephalomyelitis. Aust. vet., 1978, 54, 68-85 .

(39)WILLEMART (J.P.) - Encéphalomyélite infectieuse aviaire : Etude expérimentale de souches de virus isolées en France. Recl. Med. vet., 1965, 141, 719-738.

(40)WILLEMART (J.P.) et SCHRICKE (E.) - Encéphalomyélite infectieuse aviaire : observation de la maladie sous une forme chronique dans un troupeau de reproductrices. Recl. Méd. vét., 1966, 142, 1201-1206.

(41)WILLEMART (J.P.) et DUPOND (B.) - Diagnostic de l'encé- l'encéphalomyélite infectieuse : Méthodes virologiques et sérologiques. Bull. Ass. fr. vét. Microb., 1967, I, 5-16.